

PLASMA-
PROTEINASEINHIBITOR-SPIEGEL
NACH SCHWEREN OPERATIONEN

Alena Jering

Disbui. München

1987





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung für Klinische Chemie und
Klinische Biochemie in der Chirurgischen
Klinik Innenstadt an der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Fritz

PLASMA-PROTEINASEINHIBITOR-SPIEGEL
NACH SCHWEREN OPERATIONEN

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Alena Jering
Prag
1987

Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. H. Fritz
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. D. Neumeier
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Dr. M. Jochum
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	28.7.1987

Diese Arbeit widme ich meinen lieben Eltern,

Marie Jakubcova und Zdenek Jakubec

DANKSAGUNG

Die experimentellen Arbeiten wurden im Jahre 1981 in der Abteilung für Klinische Chemie und Klinische Biochemie an der Chirurgischen Klinik Innenstadt der Universität München durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. H. Fritz, dem Leiter dieser Abteilung, bin ich für die Überlassung des Themas sehr verbunden. Bei Frau Dr. M. Jochum bedanke ich mich für die Einführung in die Fragestellung, die wissenschaftliche Betreuung, sowie für die Geduld, die sie der Tatsache entgegenbrachte, daß die Ergebnisse erst sehr viel später zusammengestellt und ausgewertet wurden. Familiäre Umstände erzwangen die lange Verzögerung.

Ohne die Bereitstellung der Plasmaproben, die Charakterisierung des Patientenkollektivs und die Überlassung von klinischen Daten durch Prof. Dr.K.-H. Duswald wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Ich danke ihm dafür recht herzlich.

Der Firma Boehringer Mannheim bin ich für die Testkits zur Bestimmung der Proteinaseinhibitoren verbunden. Frau E. Spiegel, Herrn R. Gärtner und meinem Mann gilt mein Dank für die Mithilfe bei der Bestimmung der Inhibitoraktivitäten an Analysenautomaten (Automat ACP 5040 der Firma Eppendorf und Centrifichem 500 der Firma Union Carbide). Herr Dr. J. Rasch war in allen Fragen, die die Computer-gestützte Datenauswertung betrafen, ein unersetzlicher Ratgeber und Helfer; auch ihm sei für seine Bemühungen recht herzlich gedankt.

INHALTSVERZEICHNIS

1. Zusammenfassung	S. 1
2. Einleitung	S. 7
3. Fragestellung	S. 10
4. Patientenkollektiv	S. 12
4.1. Einteilung der Patienten in 3 Gruppen	S. 12
4.2. Patientenauswahl	S. 14
4.3. Definition der Sepsis	S. 16
4.4. Alter der Patienten	S. 18
4.5. Diagnosen	S. 19
4.6. Zeitliche Verläufe der Sepsis	S. 19
5. Methodik	S. 20
5.1. Plasmagewinnung	S. 20
5.2. Bestimmung von α -2-Makroglobulin (α_2M)	S. 21
5.2.1. Radiale Immundiffusion	S. 21
5.2.2. Photometrischer Test, manuelle Version	S. 22
5.2.3. Photometrischer Test, Automatenversion	S. 24
5.2.4. Untersuchungen von Teststörungen	S. 25
5.3. Bestimmung von α -1-Proteinaseinhibitor (α_1PI)	S. 26
5.4. Bestimmung von Antithrombin III (AT III)	S. 28
5.4.1. Radiale Immundiffusion	S. 28
5.4.2. Photometrischer Test	S. 28
5.5. Bestimmung von α -2-Plasmininhibitor (α_2PI)	S. 30
5.6. Datensätze und Hinweis auf die statistischen Verfahren	S. 32
6. Ergebnisse	S. 36
6.1. Bewertung der verwendeten Bestimmungsmethoden	S. 36
6.1.1. Präzisionsuntersuchungen	S. 36

6.1.1.1. α_2 M Test	S. 38
6.1.1.2. α_1 PI Test	S. 44
6.1.1.3. ATIII Test	S. 47
6.1.1.4. α_2 PI Test	S. 48
6.1.2. α_2 M-Test: Untersuchungen von Teststörungen	S. 51
6.1.3. Methodenvergleich: α_2 M-Bestimmungen	S. 52
6.1.4. Methodenvergleich: ATIII-Bestimmungen	S. 54
6.2. Inhibitor-Aktivitäten vor und während Sepsis	S. 57
6.2.1. Summarische statistische Betrachtungen	S. 58
6.2.1.1. Gesamtkollektiv	S. 58
6.2.1.2. Patientengruppen	S. 59
6.2.1.3. Einzelne Patienten	S. 63
6.2.2. Detaillierte statistische Betrachtungen	S. 71
6.2.2.1. Inhibitoraktivitäten vor und nach der Operation	S. 72
6.2.2.2. Inhibitoraktivitäten vor Sepsisbeginn	S. 79
6.2.2.3. Inhibitoraktivitäten während des Sepsisverlaufes	S. 91
6.2.2.4. Inhibitoraktivitäten bei Entlassung, Sepsisende oder Tod	S. 95
6.3. Inhibitoraktivitäten im zeitlichen Verlauf	S. 97
6.3.1. α_2 M	S. 97
6.3.2. α_1 PI	S. 105
6.3.3. ATIII	S. 112
6.3.4. α_2 PI	S. 119
7. Diskussion der Ergebnisse	S. 127
7.1. Methodisches	S. 127
7.2. Normbereiche	S. 131
7.3. Normierung auf die Werte vor der Operation	S. 131
7.4. Inhibitoraktivitäten vor und während Sepsis	S. 133

7.4.1 α_2M	S. 134
7.4.2 α_1PI	S. 136
7.4.3 ATIII	S. 137
7.4.4 α_2PI	S. 140
8. Schlußbetrachtungen	S. 141
9. Literaturverzeichnis	S. 143
10. Lebenslauf	S. 149



1. ZUSAMMENFASSUNG

Bei Sepsis werden sowohl Proteinasen der humoralen Systeme (Gerinnung, Fibrinolyse, Komplement und Kallikrein-Kinin-System) aktiviert als auch proteolytische Enzyme wie Elastase, Kathepsine und andere lysosomale Proteasen aus weißen Blutzellen, Mast- und Endothelzellen etc. ins Gewebe und in die Blutbahn abgegeben. Da die massive Aktivierung bzw. Freisetzung von Proteasen zu einer deutlichen Verminderung der Plasma-Proteinaseinhibitoren führen dürfte, war es daher das Ziel der vorliegenden Arbeit zu untersuchen, ob während einer Sepsis die postulierte Abnahme an Proteinaseinhibitoren zu beobachten ist. Ausgewählt wurden vier Proteinaseinhibitoren:

α_2M	= α_2 -Makroglobulin	- als ein unspezifischer Proteinase-Inhibitor
α_1PI	= α_1 -Proteinaseinhibitor	- als Inhibitor der Elastase
ATIII	= Antithrombin III	- als Inhibitor des Ge- rinnungssystems
α_2PI	= α_2 -Plasmininhibitor	- als Inhibitor des fibrino- lytischen Systems

Als Untersuchungsmaterial dienten Plasmaproben von Patienten, die alle einen schweren abdominal-chirurgischen Eingriff hinter sich hatten. Retrospektiv wurden die Patienten in drei Gruppen aufgeteilt:

Gruppe A) Die Patienten zeigten im post-operativen Verlauf keinerlei Sepsisanzeichen.

Gruppe B) Die Patienten erlitten nach Operation eine Sepsis, die sie jedoch überlebten.

Gruppe C) Die Patienten verstarben an den Folgen einer postoperativen Sepsis.

Plasmaproben von je 4 Patienten jeder Gruppe wurden auf die Aktivitäten aller 4 Inhibitoren analysiert. Im Fall von α_2M wurde das Patientenkollektiv auf 10 Patienten der Gruppe A, 9 Patienten der Gruppe B und 9 Patienten der Gruppe C erweitert.

Die Plasmaproben wurden 8 Stunden vor und 8 Stunden nach der Operation sowie in 12-stündigen Abständen bis zur Entlassung (Gruppe A), dem Abklingen der Sepsiszeichen (Gruppe B) oder dem Tod (Gruppe C) gewonnen. Die Einteilung der Patienten in die Gruppen sowie die Gewinnung der Plasmaproben war nicht Gegenstand dieser Arbeit.

Verglichen wurde, ob die Inhibitoraktivitäten der Kontrollgruppe A signifikant von denen der Gruppe B und C abwichen, bzw. ob sich Gruppe B von Gruppe C unterschied.

Die Resultate der Untersuchung lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- 1.) Die verwendeten Bestimmungsmethoden genügten den Anforderungen eines klinisch-chemischen Meßlabors nach Richtigkeit und Präzision.

2.) Mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % lagen die Mittelwerte über den gesamten Krankheitsverlauf in der Gruppe

A: für α_2M und ATIII unter dem Normbereich, für α_2PI im Normbereich und für α_1PI im oberen Normbereich oder darüber.

B: für α_2M niedriger als der Normbereich bzw. in dessen unterem Abschnitt. Das Verhalten der übrigen Inhibitoren glich dem der Gruppe A.

C: in den der Gruppe A vergleichbaren Bereichen

3.) Die Mittelwerte der einzelnen Gruppen unterschieden sich mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % :

- nicht bei α_2PI und α_1PI
- bei ATIII, wobei $A > B > C$ war
- bei α_2M , wobei $B > C$ und $A = C$ war

4.) Für keinen der gemessenen Parameter konnte aus den Mittelwerten über den gesamten Krankheitsverlauf eines einzelnen Patienten ein Rückschluß auf die Gruppenzugehörigkeit getroffen werden.

5.) Die Inhibitoraktivitäten lagen bei allen Gruppen 8 Stunden vor der Operation überwiegend im Normbereich, in einigen Fällen aber auch darunter (α_2M und ATIII), oder darüber (α_1PI und α_2PI)

6.) 8 Stunden nach der Operation wurden bei allen Inhibitoren und in allen Gruppen niedrigere Aktivitäten als vor der Operation gemessen.

7.) Die Mittelwerte der Kontrollgruppe einerseits sowie die der Gruppen B und C vor Sepsisbeginn andererseits unterschieden sich mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99%
- nicht bei α_2M , α_1PI und α_2PI
- jedoch signifikant bei ATIII, wobei $A > B$ bzw. C war.

8.) Die Mittelwerte von Gruppe B und Gruppe C während des Verlaufs der Sepsis unterschieden sich mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 %:
- bei den Parametern α_2M , ATIII und α_2PI , wobei $B > C$ war
- nicht bei α_1PI

9.) Wurden die Phasen "vor Sepsis (V)" (für beide Gruppen gemeinsam) zu "während Sepsis (W)" jeweils getrennt bei den Gruppen B (WB) und C (WC) miteinander verglichen, so ergaben sich mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % folgende Unterschiede für die Aktivitäten der einzelnen Parameter:

- α_2M : $WB > V > WC$
- α_1PI : $V < WB = WC$
- ATIII: $V = WB > WC$
- α_2PI : $V = WB > WC$

10.) In der ersten postoperativen Phase (1 - 3 Tage) nahmen die α_2 M-Aktivitäten in allen Gruppen stetig bis unter den Normbereich ab. Anschließend erfolgte entweder ein allmählicher Wiederanstieg bis in den Normbereich, oder die Werte blieben unter dem Normbereich bzw. streuten um den unteren Normbereich. Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen konnten nicht festgestellt werden.

11.) Ähnlich verhielt sich ATIII. Nach der Operation sanken die Werte für 1,5 - 3,5 Tage kontinuierlich bis unter den Normbereich ab. Nach Erreichen des Minimums stiegen die Werte in der Gruppe A und B allmählich wieder bis zum Normbereich an. Ein geringer Anstieg war auch in Gruppe C zu sehen, jedoch lagen die Werte bei Sepsisbeginn im stark erniedrigten Bereich und verblieben dort bzw. fielen weiter ab.

12.) Anders verhielt sich α_1 PI. Nach Abnahme der α_1 PI-Aktivitäten für 2-3 Tage nach der Operation wurde bei allen Gruppen eine ausgeprägte Akutphasenreaktion beobachtet, gefolgt von einem schnellen Absinken in den Normbereich bzw. Verbleiben im erhöhten Bereich.

13.) Ähnliches wie für α_1 PI galt für α_2 PI, nur war hier die Akutphasenreaktion nicht so stark ausgeprägt.

Eine Sepsis-bedingte Abnahme der Spiegel der gemessenen Proteaseninhibitoren wurde demnach nicht für α_1 PI und α_2 PI, wohl aber für α_2 M und ATIII beobachtet. Jedoch konnten für

$\alpha_2\text{M}$ keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit vom Schweregrad der Entzündung nachgewiesen werden. Nach den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung scheint sich aus der Reihe der Plasma-Proteinaseinhibitoren daher nur ATIII als ein relevanter, klinisch-chemischer Parameter zur Verlaufskontrolle einer Sepsis zu eignen.

2. EINLEITUNG

Eine umfassende Darstellung der bis zu Beginn dieser Studie veröffentlichten Literatur zur Sepsishäufigkeit erfolgte in der Habilitationsschrift von Duswald (18). Dabei wurde gezeigt, daß 6 - 14 % der Patienten, die nach Operationen auf chirurgischen Intensivstationen behandelt werden müssen, eine Sepsis erleiden. Die Letalität ist mit 30 - 70 % außerordentlich hoch.

Die hohe Sterberate bei Sepsis wird zum großen Teil auf gravierende pathobiochemische Veränderungen in der Zirkulation zurückgeführt. So bewirken z.B. bei gramnegativen Infektionen die sogenannten Endotoxine, d.h. Lipopolysaccharidmoleküle bakterieller Zellwände (32,62), die Zerstörung von biologischen Membranen (1,13) des Wirtsorganismus. Dabei werden aus verschiedenen Körperzellen sogenannte Entzündungsmediatoren wie z.B. Enzyme aus den Lysosomen polymorphkerniger Granulozyten ausgeschüttet (45,49,62).

Lysosomale Enzyme kommen unter physiologischen Bedingungen überwiegend intrazellulär vor und dienen der Zelle zum Abbau von verbrauchten körpereigenen Substanzen bzw. von phagozytiertem Material (35). Durch die übermäßige Freisetzung lysosomaler Proteasen können u.a. die proteolytischen Enzyme der Blutsysteme - nämlich die der Gerinnung, der Fibrinolyse, des Kalikrein-Kinin- und des Komplementsystems - aktiviert werden (12,28,43,46).

Hierbei entstehen aus inaktiven Vorstufen, den Proenzymen, katalytisch aktive Proteasen, die schließlich z.B. in der Gerinnungskaskade zur Bildung von Thrombin führen. Dieses Enzym wandelt das lösliche Fibrinogen in unlösliches Fibrin um. Unter der katalytischen Wirkung von Faktor XIII A - der seinerseits durch Einwirkung von Thrombin aus einer inaktiven Vorstufe entsteht - erfolgt die Quervernetzung zu Fibrin, das sich an den Gefäßwänden ablagert und somit zum Verschuß der Blutbahnen durch Thromben führen kann (48,61). Thrombin wird schließlich durch Komplexierung mit Antithrombin III (ATIII) inaktiviert, die inaktiven Enzym-Inhibitorkomplexe werden durch das retikulo-endotheliale System eliminiert (35,52). Infolgedessen werden sowohl Enzyme als auch Inhibitoren ständig verbraucht.

Ähnliche Vorgänge laufen auch im Fibrinolyse- und Komplementsystem ab. Hier werden letzten Endes Plasmin- α 2-Plasmininhibitor und Kallikrein-C1-Inaktivator-Komplexe gebildet.

Neben der spezifischen Aktivierung der Blutsysteme kann es durch Freisetzung von lysosomalen Proteasen aus Blut- und Gewebszellen auch zu einem unspezifischen Abbau von Plasmaproteinen wie z.B. der Plasmainhibitoren ATIII (33), bzw. α 2PI und C1-Inaktivator kommen (9,33).

Lysosomale Proteasen, wie Elastase aus polymorphkernigen Leukozyten, werden durch die Plasma-Proteinaseinhibitoren α 2-Makroglobulin (α 2M) und α 1-Proteinaseinhibitor (α 1PI) komplexiert (53); die Komplexe werden ebenfalls durch das retikulo-endotheliale System eliminiert. Eine verstärkte Proteasen-

ausschüttung sollte somit eine Verminderung des Inhibitorpotentials sowohl durch proteolytische Zerstörung als auch durch Komplexierung der Zielenzyme nach sich ziehen.

Bekanntermaßen stellen über einen längeren Zeitraum deutlich erniedrigte Inhibitorspiegel im Plasma und Gewebe eine wesentliche Ursache schwerer Krankheitszustände dar. So ist z.B. der kongenitale Mangel an α_2 PI mit schweren Blutungsneigungen (4,6), der Mangel an α_1 PI mit Lungenemphysem und Leber-Zirrhose (40) sowie der ATIII-Mangel mit einer verstärkten Neigung zu Thrombosen (5,20) assoziiert. Ein ausgeprägter angeborener α_2 M-Mangel tritt sehr selten auf und wird meist nur kurze Zeit überlebt (39).

3. FRAGESTELLUNG

Wegen der relativ großen Häufigkeit und der hohen Mortalitätsrate bei Sepsis ist eine frühzeitige Erkennung des Krankheitszustandes von eminenter Bedeutung. Die Suche nach klinisch-chemischen Parametern, die eine rechtzeitige Diagnose sowie eine Überwachung des Krankheitsverlaufs und eine mögliche Prognose über den Ausgang erlauben, schien uns daher als wesentliches Ziel der vorliegenden Arbeit.

Wie in der Einleitung ausgeführt, läßt das gegenwärtige Verständnis der pathobiochemischen Vorgänge bei Sepsis einen massiven Verbrauch von Proteinaseinhibitoren vermuten. Die Folge davon sollte sein, daß bei gleichbleibender Syntheserate die Konzentration an aktiven, regulativen Hemmstoffen abnimmt. Daher überprüfen wir:

- a) ob obige Annahme experimentell nachzuweisen ist und
- b) ob bei Bestätigung der Annahme die Bestimmung von Proteaseinhibitoren als diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von schweren entzündlichen Erkrankungen wie der Sepsis bzw. zur Beurteilung des Krankheitsverlaufs dienen kann.

Um das Spektrum der bei Sepsis freigesetzten Proteasen hinreichend zu erfassen, wurden vier Inhibitoren ausgewählt:

- 1.) $\alpha_2\text{M}$, als universeller und unspezifischer Proteinase-Inhibitor (22)
- 2.) $\alpha_1\text{PI}$, als Inhibitor neutraler Proteasen aus Leukozyten (insbesondere der Elastase)

- 3.) ATIII, als Inhibitor von Thrombin und Faktor Xa (und somit des Gerinnungssystems)
- 4.) α_2 PI, als Inhibitor von Plasmin (und somit des Fibrinolyse-
lysesystems)

Um die mögliche diagnostische Relevanz der ausgewählten Proteaseinhibitoren beurteilen zu können, wurden die Aktivitäten der Hemmstoffe in sequentiellen Plasmaproben von 3 Patientenkollektiven (Kontrollgruppe ohne Infektion und postoperative Infektion ohne bzw. mit tödlichem Ausgang) vor dem chirurgischen Eingriff sowie im gesamten postoperativen Verlauf bis zur Entlassung, dem Sepsisende bzw. dem Tod analysiert.

4. PATIENTENKOLLEKTIV

Die Erhebung der in diesem Abschnitt genannten Befunde und Daten war nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit, daher sind die methodischen Einzelheiten auch nicht im Abschnitt 5 "Methodik" aufgeführt.

Die hier vorgestellten Angaben dienen lediglich zur Charakterisierung des Patientenkollektivs. Alle Daten wurden freundlicherweise von Prof. Duswald zur Verfügung gestellt, ebenso erfolgte die Definition der Sepsiskriterien sowie die Einteilung der Patienten in die verschiedenen Gruppen durch Prof. Duswald.

4.1. EINTEILUNG IN DREI GRUPPEN

Alle untersuchten Citratplasmen stammten von Patienten, die sich schweren abdominal-chirurgischen Eingriffen mit einer Operationsdauer von mindestens 120 Minuten unterziehen mußten. Die erste Plasmaprobe wurde in der Regel 8 Stunden vor dem chirurgischen Eingriff entnommen, weitere Plasmaproben 8 Stunden nach der Operation sowie in regelmäßigen 12-stündigen Abständen in der postoperativen Phase.

Retrospektiv wurde jeder Patient einer der drei folgenden Gruppen zugeordnet:

Gruppe A: (n=10)

Diese Gruppe diene als Kontrollgruppe. Bei den Patienten der Gruppe A wurde im postoperativen Verlauf keines der unter 4.3. definierten Infektionszeichen beobachtet.

Gruppe B: (n=9)

Patienten, die im Verlauf der postoperativen Phase eine Sepsis erlitten und diese überlebten, wurden der Gruppe B zugerechnet. Die letzte Plasmaprobe wurde nach dem Abklingen der Sepsiszeichen entnommen.

Gruppe C: (n=9)

Patienten, die während der postoperativen Phase Sepsiszeichen aufwiesen und im Verlauf der Sepsis verstarben, wurden in der Gruppe C zusammengefaßt. In der Regel erfolgte die letzte Blutentnahme kurz vor dem Tod.

Die Gruppeneinteilung ist in Abb.1 schematisch illustriert.

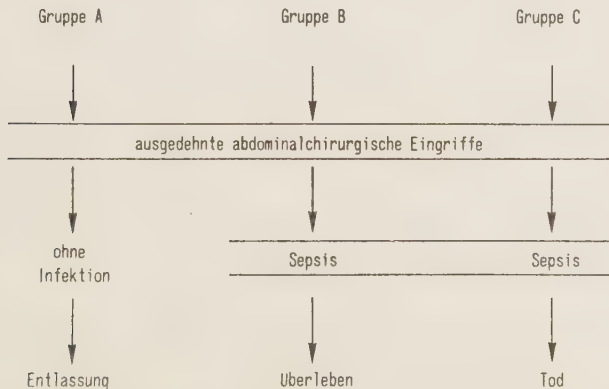


Abb.1: Gruppeneinteilung der Patienten nach abdominalchirurgischen Eingriffen.

4.2. PATIENTENAUSWAHL

Die 4 Proteaseinhibitoren wurden nicht vom gesamten Patientenkollektiv bestimmt. Im ersten Teil der Arbeit wurden die Aktivitäten der Inhibitoren α_2M , α_1PI , ATIII, und α_2PI von je 4 Patienten jeder Gruppe untersucht.

Gruppe	Patient Nr.
A	50, 60, 63, 65
B	46, 62, 72, 92
C	40, 64, 66, 70

Für diese Patienten sind in der Tabelle 1 Entlassung, Sepsisbeginn, Sepsisende bzw. Tod in Tagen nach der Operation angegeben. Nach der ersten Durchsicht der erhaltenen Daten wurden in Absprache mit Dr. Jochum und Prof. Duswald von jeder Gruppe weitere Patienten ausgesucht (Tabelle 1: Patienten ohne Angaben zur Entlassung bzw. Sepsisbeginn). Da in der experimentellen Phase das Schwergewicht der vorliegenden Arbeit auf das Verhalten von α_2M gelegt wurde, wurde vereinbart, aus den Plasmaproben der zusätzlichen Patienten nur α_2M zu messen. Diese erweiterten Daten sollten dazu dienen, die bereits vorliegenden Resultate zu ergänzen bzw. statistisch abzusichern.

Gruppe	Pat.Nr.	Alter	Geschl.	Diagnose	Sepsisbeginn (Tage nach OP)	Entlassung
A	59	45	m	Rectum-Carcinom		9
A	60	40	m	Cholechoolithiasis		7
A	63	48	m	Magen-Carcinom		15
A	65	67	w	Sigmadivertikulitis		12
A	102	62	w	Sigmadivertikeltumor		
A	107	51	m	Ulcus duodeni		
A	108	69	w	metastatisches Ovarial Carcinom		
A	109	55	w	Sigma-Carcinom		
A	111	31	w	Cholecystitis		
A	116	21	m	M. Crohn Zökum		
B	46	50	m	Blutender Ulcus duodeni	6	24
B	49	49	w	Magen-Carcinom		
B	62	40	w	Cholechocho Stein	1,5	20
B	68	70	m	Pankreas-Carcinom		
B	71	79	m	Pneumonie		
B	72	30	m	Traumatische Amputation beider Oberschenkel	3	17
B	82	52	m	Pankreatitis		
B	83	45	m	Dünndarm Perforation		
B	92	43	m	rezidivierende Pankreatitis	2	22
C	21	54	m	Ulcus duodeni		
C	40	67	m	Rectum-Carcinom	6	58
C	61	51	m	Portale Hypertension		
C	64	50	w	Pankreatitis	41	50
C	66	68	m	Sigma-Carcinom	28	44
C	70	46	m	Ulcus pepticum jejuni	11	41
C	77	68	m	Pankreasnekrose		
C	112	73	w	subphrenischer Abszeß		
C	118	78	w	Perityphlitischer Abszeß		

Tabelle 1: Klinische Daten für eine Patientenauswahl der Gruppen A, B und C

4.3. DEFINITION DER SEPSIS

Patienten wurden den Gruppen B oder C nur dann zugeordnet, wenn im postoperativen Verlauf die in der Abb. 2 angegebenen Sepsiskriterien 1 - 4 gleichzeitig gegeben waren.

1. **KLINISCHER INFektionsHERD MIT ERREGERNACHWEIS**
 2. **TEMPERATURANSTIEG > 38,5 °C**
 3. **LEUKOZYTÖSE > 15.000/ μ l bzw
LEUKOPENIE < 5.000/ μ l**
 4. **THROMBOPENIE < 100.000/ μ l bzw.
THROMBOZYTENABFALL > 30 %**
 - (5. **POSITIVER ERREGERNACHWEIS IM BLUT**)

Abb. 2: Sepsiskriterien

1.) Sepsisherde und bakteriologische Befunde.

Primärer Sepsisherde war in der Mehrzahl der Fälle eine Peritonitis (11 von 18 Patienten). Weitere primäre Sepsisherde waren: Cholangitis (1 Fall), Pneumonie (2 Fälle), Abszeß der Weichteile (2 Fälle), und abdominaler Abszeß (1 Fall). Bakteriologische Untersuchungen ergaben, daß in der Regel Mischinfektionen vorlagen [genaue Angaben siehe (18)].

2.) Körpertemperatur

Ein Körpertemperaturanstieg auf > 38,5°C (rektal gemessen) wurde als weiteres Sepsiszeichen gewertet. Die Mittelwerte der Gruppe A lagen zu keinem Zeitpunkt über 38°C. Bei den Gruppen B und C stieg die Temperatur zu Sepsisbeginn auf > 38,5°C an. Bei Sepsisende fiel die

Temperatur wieder in die Nähe des Normalbereiches, während bei Gruppe C bis zum Tode erhöhte Temperaturen gemessen wurden.

3.) Leukozyten

Die Leukozytenzahl im peripheren Blut wurde mit einem elektronischen Zählgerät der Firma Coulter Counter bestimmt. Gezählt wurden die Leukozyten in etwa 12-stündigem Abstand, bei Auftreten von Sepsis in etwa 6-stündigen Intervallen. Bei Gruppe A lag die Anzahl der Leukozyten während des gesamten Beobachtungszeitraumes im Normalbereich (5000 - 11 000/ μ l). Als Sepsiskriterium wurde gewertet, wenn die Leukozytenzahl auf $> 15\ 000/\mu$ l anstieg bzw. auf $< 5000/\mu$ l abfiel. Die Normalisierung der Leukozytenwerte galt als Zeichen für das Ende der Sepsis.

4.) Thrombozyten

Thrombozyten aus venösem Citratblut wurden in der Neubauer Zählkammer alle 24 Stunden bestimmt. Als Sepsiskriterium wurde gewertet, wenn:

- entweder die Thrombozytenzahl auf $< 100\ 000/\mu$ l
- oder $< 30\ \%$ des zuletzt gemessenen Wertes abfiel.

Die Normalwerte für Thrombozyten betragen $2 - 3,5 \times 10^5$ pro μ l. In der Kontrollgruppe lag die Thrombozytenzahl während der gesamten postoperativen Phase im unteren Normbereich bzw. etwas darunter (Aktivierung des Gerinnungssystems durch die Operation!) und stieg bei Entlassung deutlich über dem Ausgangswert. Bei den Gruppen B und C wurde zu Beginn der Sepsis eine ausgeprägte Reduktion der Thrombozytenzahl verzeichnet. Die Normalisierung

der Thrombozytenwerte galt als Anzeichen für das Sepsisende (Gruppe B). Bei Gruppe C (andauernde Sepsis) verblieb die Thrombozytenzahl bis zum Tode deutlich unter dem Normbereich.

5.) Nachweis von Bakterien im Blut

Der Bakteriennachweis aus Blut wurde als zusätzliches, jedoch nicht zwingendes Sepsiskriterium bewertet. Bei den Patienten der Gruppen B und C konnten nur in wenigen Fällen Erreger aus dem Blut nachgewiesen werden. Der Grund dafür liegt aller Wahrscheinlichkeit nach in der frühzeitig begonnenen Therapie mit Antibiotika.

4.4. ALTER DER PATIENTEN

Die Altersverteilung in den einzelnen Gruppen ist aus Tabelle 1 zu ersehen. Im Mittel betrug sie für:

Gruppe A: 49,7 (21 bis 69) Jahre

Gruppe B: 50,9 (30 bis 79) Jahre

Gruppe C: 61,6 (46 bis 78) Jahre

4.5 DIAGNOSEN

Die Diagnosen der einzelnen Patienten sind in der Tabelle 1 aufgeführt. Maligne Erkrankungen waren zu verzeichnen in:

Gruppe A bei 4 von 10 Patienten,

Gruppe B bei 1 von 9 Patienten,

Gruppe C bei 2 von 9 Patienten.

4.6. ZEITLICHE VERLÄUFE DER SEPSIS

Patienten der Gruppe A wurden nach durchschnittlich 11 Tagen (9 - 15 Tagen) aus dem Krankenhaus entlassen. Sepsisbeginn, d.h. die Erfüllung der Kriterien 1 - 4, siehe Abb. 2, lag im Mittel in Gruppe B bei 3 Tagen (1,5 - 6 Tage) und in Gruppe C bei 23 Tagen (6 - 41 Tage) nach der Operation.

Die Sepsiszeichen klangen in Gruppe B nach 21 Tagen (17 - 24 Tage) ab. Die mittlere Sepsisdauer betrug demnach 18 Tage (Bereich 14 - 19,5 Tage).

Patienten der Gruppe C starben im Mittel 49 Tage (41 - 58 Tage) nach dem chirurgischen Eingriff, die durchschnittliche Sepsisdauer betrug 27 Tage (9 - 52 Tage).

5. METHODIK

5.1. PLASMAGEWINNUNG

Alle Bestimmungen wurden aus Citratplasmen durchgeführt. 4,5 ml venöses Blut wurde in Plastikspritzen aufgezogen, in denen als Antikoagulans 0,5 ml Natrium-Citrat (0,11 Mol/l) vorgelegt war. Der Spritzeninhalt wurde nach der Blutabnahme sogleich durch vorsichtiges Schwenken des Röhrchens gemischt und 30 Min. bei 1500 g zentrifugiert. Der Plasmaüberstand wurde abgetrennt und in ca. 0,5 ml Aliquots bei -70°C bis zur Bestimmung gelagert. Die eingefrorenen Proben wurden unmittelbar vor Durchführung der entsprechenden Tests bei Raumtemperatur aufgetaut und vor der weiteren Verwendung nochmals gemischt. Da aus einer Probe in der Regel mehrere Parameter bestimmt wurden, konnte vermieden werden, das gleiche Aliquot mehrmals einzufrieren und aufzutauen. Bei notwendigen Nachuntersuchungen wurde auf ein frisches Aliquot zurückgegriffen.

Die Lagerzeit der einzelnen Proben war unterschiedlich lang, sie variierte zwischen wenigen Wochen bis zu einem Jahr. Dies kam daher, daß die Proben über einen längeren Zeitraum gesammelt wurden, und die in dieser Arbeit beschriebenen Experimente erst nach Vorliegen aller Patientenproben begannen. Vorversuche haben gezeigt, daß sich die Proben hinsichtlich der untersuchten Parameter während der Lagerzeit nicht veränderten.

5.2 BESTIMMUNG VON α_2M

5.2.1 RADIALE IMMUNDIFFUSION

Zur Bestimmung von α_2M mittels radialer Immundiffusion wurden M-Partigen^R Platten (Lot Nr. 041007) der Firma Behringwerke AG, Marburg verwendet. Die Platten enthielten in einer Agar-Gelschicht monospezifisches Antiserum gegen α_2M . Plasmaproben, bzw. die von den Behringwerken bezogenen Standards (Protein-Standard-Serum B) und das Kontrollplasma zur Qualitätskontrolle für die Immundiffusionsplatten wurden mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung 1:2 verdünnt. Je 5 μ l der verdünnten Proben wurden pro Auftragsstelle appliziert. Danach wurden die Platten im verschlossenen Zustand bei Raumtemperatur zwischen 36 und 48 h inkubiert.

Nach Ablauf dieser Zeitspanne, die für alle Platten einer Bestimmungsserie einheitlich (maximale Differenz innerhalb einer Serie ca. 1 h) war, wurde der Durchmesser der Immun-Präzipitatringe mit einer Schablone oder einem Meßprojektor für Immunanalysen (Behringwerke) auf 0,1 mm genau bestimmt. Die Auswertung erfolgte über eine Eichkurve. Die Quadrate der Durchmesser der Präzipitatringe wurden gegen die deklarierte Konzentration in mg/dl der Standards aufgetragen. Bei dieser Auftragung ergab sich eine Gerade als Eichkurve. Der Gehalt an α_2M in unbekannten Proben wurde über diese Eichkurve ermittelt. Für jede Versuchsserie wurde eine eigene Eichkurve erstellt.

5.2.2 PHOTOMETRISCHER TEST, MANUELLE VERSION

Testprinzip:

Zu einer verdünnten Plasmaprobe wird eine bestimmte Menge an Trypsin gegeben. Die Menge an Trypsin ist so ausgelegt, daß das in der Probe vorhandene α_2M quantitativ in den α_2M -Trypsin-Komplex überführt wird. Überschüssiges Trypsin wird durch Zugabe von Aprotinin inaktiviert. α_2M -gebundenes Trypsin hingegen wird unter den gewählten Reaktionsbedingungen von Aprotinin nicht oder nur sehr geringfügig inhibiert und bleibt somit für niedermolekulare Substrate proteolytisch aktiv. Daher ist die gemessene Trypsin-Aktivität, bestimmt mit dem Substrat Chromozym Try^R (Z-Val-Gly-Arg-p-Nitroanilid) ein Maß für die Konzentration von α_2M in der Probe.

Durchführung:

Verwendet wurde der fertige Reagenziensatz "Alpha-2-Makroglobulin Farbttest" der Firma Boehringer Mannheim. Die Proben wurden mit 0,9 %iger Kochsalzlösung 1 + 20 vorverdünnt. In Plastikkuvetten (Schichtdicke 1 cm) wurde 50 μ l verdünnte Probe gegeben, danach 2 ml Trypsinlösung ($> 0,25$ U/ml, bezogen auf das Substrat Benzoyl-D,L-Arginin-p-Nitroanilid in 100 mM Tris/HCl Puffer pH 8,0 plus 150 mM NaCl). Die Trypsinlösung wurde vor Gebrauch nach den Angaben des Herstellers angesetzt. Nach Zupipettieren der Trypsinlösung wurde sofort gemischt, dann genau eine Minute bei 25°C inkubiert. Darauf wurde 0,1 ml Aprotininlösung (25 IU/ml) zugegeben, gemischt und weitere 2 Minuten bei 25°C inkubiert. Abschließend wurden 0,2 ml Substratlösung (Z-Val-Gly-Arg-p-Nitroanilin, 5 mM/l) hinzugefügt, wiederum gemischt und nach

einer weiteren Minute Inkubationszeit die Extinktion bei 405 nm bestimmt. Die Ablesung wurde nach 1, 2 und 3 Minuten wiederholt. Gemessen wurde an einem Eppendorf-Filter-Photometer. Sämtliche Reaktionslösungen wurden vor Gebrauch auf die Meßtemperatur von 25°C temperiert.

Auswertung:

Um die Inhibitor-Einheiten an α_2M zu erhalten, wurde der Mittelwert der Extinktionsänderung pro Minute mit dem Faktor 101,5 multipliziert (molarer Extinktionskoeffizient für p-Nitroanilin: 9,72):

$$IU/ml = \Delta E/min \times F$$

$$F = \frac{V \times VF}{\epsilon \times d \times v} = 101,5$$

Erläuterung der Abkürzungen:

$\Delta E/min$: Extinktionsänderung pro Minute

V: Endvolumen des Bestimmungsansatzes in ml

v: Volumen der verdünnten Probe in ml

VF: Faktor der Vorverdünnung der Probe (in diesem Fall 21)

d: Schichtdicke der Küvette in cm

ϵ : molarer Extinktionskoeffizient von p-Nitroanilin

IU/ml: Inhibitor-Einheiten pro Milliliter

Als eine Inhibitoreinheit (IU) ist diejenige Menge an Inhibitor definiert, die unter Testbedingungen eine Einheit der gemessenen Protease inaktiviert. Als eine Einheit an Protease gilt die Menge, die pro Minute ein μMol Substrat umsetzt.

Neben dem eben beschriebenen Testansatz (Makroansatz) wurde noch ein Halbmikroansatz durchgeführt, bei dem alle eingesetzten Reagenzienvolumina im Vergleich zum Makroansatz halbiert wurden. Ansonsten waren die Bedingungen identisch. Bei der manuellen Testführung wurde mit Doppelbestimmungen gearbeitet.

5.2.3 PHOTOMETRISCHER TEST, AUTOMATENVERSION

Testprinzip und Reagenzien:

Sie entsprachen dem manuellen Test. Abweichend vom diesem Test betrug die Probenverdünnung jedoch 1 + 14.

Durchführung:

Gemessen wurde an dem Analysenautomaten Eppendorf ACP 5040. Dieser Automat gestattet neben der automatischen Dosierung der Probe auch die Dosierung von weiteren 3 Reagenzien. Die Geräteeinstellung war:

Temperatur	:	25°C
Takt	:	20 sec
Wellenlänge	:	405 nm
Abgleich	:	0
Faktor	:	10 000
Rotordrehung	:	1

Startposition :	19
Spülposition :	18
Volumen Pos. 1:	500 μ l (Puffer-Trypsinlösung)
Volumen Pos. 2:	25 μ l (verdünnte Probe)
Volumen Pos. 5:	50 μ l (Substrat)

Ca. 1 ml verdünnte Probe wurde in 2 ml Eppendorf-Reaktionsgefäße vorgelegt. Die verschlossenen Reaktionsgefäße wurden in die entsprechenden Kettenglieder des Automaten gestellt und von dem Automaten der Reihe nach abgearbeitet. Es wurden Einfachbestimmungen durchgeführt. Als Qualitätskontrolle wurde nach je 20 Proben Precichrom I und Precichrom II (Qualitätskontrolle, Hersteller Boehringer Mannheim, Lot Nr. 1/002) eingesetzt.

Auswertung:

Die Berechnung der Inhibitoreinheiten erfolgte anhand der unter Punkt 5.2.2. angegebenen Formeln.

5.2.4 UNTERSUCHUNG VON TESTSTÖRUNGEN

Zu 100 μ l Kontrollplasma Precichrom I bzw. Precichrom II wurden jeweils 16 μ l (entsprechend einer Blutverdünnung von 16%, s.S.51) 0,9 %ige Kochsalzlösung (Kontrolle) bzw. folgende Plasmaexpander

- | | |
|-----------------|--------------------------|
| a) Haemocel | (3,8 % Gelatine) |
| b) Macrodex | (6 % Dextran MW 60000) |
| c) Reomacrodex | (10 % Dextran MW 40000) |
| d) Plasmasteril | (6 % Hydroxyäthylstärke) |

pipettiert. Nach Mischen wurde 10-15 Minuten Zeit zum Äquilibrieren gegeben. Danach wurden die Proben wie normale Plasmen behandelt. Nach der Vorverdünnung wurde α_2M , mit der manuellen Testversion nach Arbeitsanleitung bestimmt.

5.3 BESTIMMUNG VON α_1PI

Testprinzip:

Eine vorverdünnte Plasmaprobe wird mit einem Überschuß an Trypsin inkubiert. Ein Teil des eingesetzten Trypsins bildet mit α_1PI einen 1:1 Komplex, der proteolytisch inaktiv ist. Daher ist die Menge des inaktivierten Trypsins ein Maß für die Konzentration von α_1PI in der Probe. Gemessen wird die restliche Trypsinaktivität.

Durchführung:

Verwendet wurde der Reagenziensatz "Alpha-1-Antitrypsin-Farbttest" (Lot Nr. 03) der Firma Boehringer Mannheim. Die Probe wird 1+10 mit 0,9 %iger Kochsalzlösung vorverdünnt. Zu 0,1 ml verdünnter Probe wird 2 ml Reagensgemisch, bestehend aus 20 Teilen Puffer (Tris-HCl, 0,1 M, pH 8,0 plus 150 mM NaCl) und einem Teil Rindertrypsin (0,9 U/ml), gegeben. Der Ansatz wird 5 Min. bei 25°C inkubiert. Anschließend werden 0,2 ml Substratlösung (20 mM Benzoyl-D,L-Arginin-p-nitroanilid) zugefügt. Nach dem Mischen wird nach ca. 60 sec. die Extinktionszunahme bei 405 nm verfolgt. Die Analysen wurden am Automaten ACP 5040 der Firma Eppendorf abgearbeitet.

Die Geräteeinstellung war:

Temperatur	:	25 °C
Takt	:	30 sec.
Wellenlänge	:	405 nm
Abgleich	:	0
Faktor	:	23,4
Rotordrehung	:	1
Spülposition	:	18
Startposition	:	5
Volumen Pos. 1:		500 µl (Puffer/Trypsin)
Volumen Pos. 2:		25 µl (verdünnte Probe)
Volumen Pos. 5:		50 µl (Substrat)

Trypsinleerwert sowie Qualitätskontrollen (Precichrom I und Precichrom II) wurden, wie unter Punkt 5.4.2 dargelegt, in regelmäßigen Abständen zwischen den Proben vermessen. Vor Messung der ersten Probe wurde 21 mal der Trypsinleerwert gemessen.

Auswertung:

Von der Aktivität der eingesetzten Trypsinmenge in E/min (Trypsin ohne Probe!) wird in die Gegenwart der Probe gemessene Trypsinaktivität abgezogen. Der Differenzbetrag wird in die unter 5.2.2 angegebene Formel eingesetzt.

5.4. BESTIMMUNG VON ATIII

5.4.1 RADIALE IMMUNDIFFUSION

Es wurden M-Partigen-Platten der Firma Behringwerke AG, Marburg, verwendet. Die Eichkurve wurde mit Standard-Plasmen (Lot 04110) der gleichen Firma erstellt. Die Durchführung und Auswertung erfolgte nach den Angaben des Herstellers, analog wie unter Punkt 5.2.1 beschrieben.

5.4.2 PHOTOMETRISCHER TEST

Testprinzip:

Die vorverdünnte Probe wird mit einer bekannten Menge an Thrombin unter Heparinzusatz inkubiert. Das in der Probe enthaltene ATIII wird während der Inkubationszeit quantitativ in den ATIII-Thrombinkomplex überführt. Die Menge des inaktivierten Thrombins ist somit ein Maß für die Konzentration an ATIII in der Probe.

Durchführung:

Verwendet wurde der Reagenziensatz "Antithrombin-III- Farbstest" der Firma Boehringer, Mannheim. Die Probe wird mit 0,9 %iger Kochsalzlösung 1 + 50 vorverdünnt. Zu 0,1 ml vorverdünnter Probe werden 2 ml Reaktionsgemisch, bestehend aus 20 Teilen Puffer (Tris-HCl, 0,1 M, pH 8,1; Heparin 1,75 USP-Einheiten /ml; Aprotinin 6,5 IU/ml sowie 150 mM NaCl) sowie 1 Teil Rinderthrombin (0,5 U/ml) zugefügt. Nach 5 Minuten Inkubation bei 25°C wird

0,2 ml Thrombinsubstrat Tos-Gly-Pro-Arg-pNA zugesetzt, nach dem Mischen wird die Extinktionszunahme über die Zeit registriert. Da Thrombin an Glas absorbiert, wurden Plastikpipetten und Reaktionsgefäße aus Plastik verwendet. Gemessen wurde am Analysenautomaten ACP 5040 der Firma Eppendorf. Die Geräteeinstellung war:

Temperatur	:	25°C
Takt	:	20 sec
Wellenlänge	:	405 nm
Abgleich	:	0
Faktor	:	130,17
Rotordrehung	:	1
Spülposition	:	18
Startposition	:	3
Volumen Pos. 1:		500 µl (Puffer/Thrombin)
Volumen Pos. 2:		25 µl (verdünnte Probe)
Volumen Pos. 5:		50 µl (Substrat)

Nach je 20 Proben (immer Einfachbestimmungen) wurden sowohl die Kontrollplasmen Precichrom I und Precichrom II in Einfachbestimmung (Boehringer Mannheim, Lot Nr. 1-002) als auch der Thrombinleerwert (= Bestimmung der eingesetzten Thrombinaktivität, ohne Probe ist) in Dreifachbestimmung vermessen. Vor der Testdurchführung wurden alle Küvetten 5 x mit der gebrauchsfertigen Thrombinlösung gespült.

Auswertung:

Von der Aktivität der eingesetzten Thrombinmenge in Δ E/min (Thrombin ohne Probe!) wird die in Gegenwart der Probe gemessene Thrombinaktivität abgezogen. Der Differenzbetrag wird in die unter 5.2.2 angegebene Formel eingesetzt.

5.5. BESTIMMUNG VON α_2 PI

Testprinzip:

Eine vorverdünnte Probe wird mit einem Reaktionsgemisch, das aus Puffer und dem Plasminsubstrat Chromozym PL^R (TOS-Gly-Pro-Lys-p-NA) besteht, versetzt. Hinzugefügt wird danach eine exakt dosierte Menge an Humanplasmin. Da α_2 PI im Gegensatz zu anderen im Blut vorkommenden Plasmin-Inhibitoren z.B. α_2 M oder α_1 PI (sogenannte progressive Plasmin-Inhibitoren) mit Plasmin innerhalb von wenigen Sekunden einen proteolytisch inaktiven 1:1 Komplex eingeht, werden bei dieser Testführung nur in untergeordnetem Maße die progressiven Plasmin-Inhibitoren mit-erfaßt. Nach der Plasminzugabe wird gemischt und danach sofort die Extinktionsänderung/min gemessen.

Durchführung:

Verwendet wurde der Reagenssatz "Alpha-2-Antiplasmin-Farbstest" der Firma Boehringer Mannheim. Gemessen wurde am Analysenautomaten Centrifichem 500 der Firma Union Carbide. Der Rotor wurde folgendermaßen bestückt:

25 µl Probe

250 µl Puffer-Substratgemisch

25 µl Plasmin

Die Probe wird mit 0,9 %iger Kochsalzlösung 1 + 10 vorverdünnt. Das Puffer-Substratgemisch besteht aus 4 Teilen Puffer (0,1 M Tris-HCl, pH 7,4 + 0,1 M Natriumchlorid) und 2 Teilen Substrat (Tos-Gly-Pro-Lys-pNA, 3 mM), die Enzymlösung enthält ca. 0,25 U Humanplasmin (Units bestimmt mit dem Substrat Tos-Gly-Pro-Lys-pNA) in 2 mM HCl und 50 % Glycerin. Die Geräteeinstellung war:

Temperatur:	25°C
Filter :	405 nm
delay time:	15 sec.
Faktor :	1471
Mode :	Kinetik

Von den 30 zur Verfügung stehenden Rotorplätzen dienten Plätze 00 und 01 als interner Abgleich (nur Reaktionsgemisch pipettiert), Plätze 02 bis 04 zur Bestimmung der eingesetzten Plasminmenge (anstelle von Probe wurde hier 0,9 %ige Kochsalzlösung pipettiert), Plätze 05 und 06 für die Qualitätskontrolle Precichrom I, Plätze 07 und 08 für die Qualitätskontrolle Precichrom II, gefolgt von den Plätzen 09 bis 29, in die die Proben (in Einfachbestimmung) zupipettiert wurden.

Auswertung:

Von der Aktivität der eingesetzten Plasminmenge in E/min (Plasmin ohne Probe!) wird die in Gegenwart der Probe gemessene Plasminaktivität abgezogen. Der Differenzbetrag wird in die unter 5.2.2 angegebene Formel eingesetzt.

5.6 DATENSÄTZE UND HINWEIS AUF DIE STATISTISCHEN VERFAHREN

Zur Auswertung der erhaltenen Daten wurden kommerziell erhältliche Computerprogramme (für den Rechner HP 9845 von Hewlett Packard) verwendet. Die Rechenprogramme ermöglichten:

- Daten zu sortieren
- Daten zu transformieren
- Daten miteinander zu vergleichen, d.h. statistisch zu analysieren

Voraussetzung zur Benutzung der Programme war die Erstellung von Datensätzen. Alle Daten jeweils einer Plasmaprobe wurden unter einer Beobachtungsnummer (= OBS-Nr.) zusammengefaßt. Die Plasmaproben wurden durlaufend nummeriert. Unter jeder Beobachtungsnummer wurden folgende Variable gespeichert:

- 1.) Zeit = Zeitpunkt der Probennahme; entweder als Tag der Probennahme (-1 heißt Probe vor der Operation, 0 heißt Probe 8 Stunden nach der Operation, 1 heißt Probe 1 Tag später, usw.) oder die laufende Reihenfolge der Probennahme.

2.) Meßwert der jeweiligen Inhibitoraktivität in IU/ml oder in %, wobei als 100 % der Wert vor der Operation definiert wurde.

3.) Patientennummer, wobei die Anfangsziffer 1 für Gruppe A, die Anfangsziffer 2 für Gruppe B und die Anfangsziffer 3 für Gruppe C vergeben wurde. Beispiel: Patientennummer 1.59 bedeutet Patient 59 aus Gruppe A

4.) Status des Patienten hinsichtlich Sepsis (Infektion)
Differenziert wurde nach:

keine Sepsis	=	0
Beginn der Sepsis	=	1
andauernde Sepsis	=	2
Tod	=	3
Ende der Sepsis	=	4

Aus technischen Gründen (maximale Speicherkapazität war 1500 Daten) konnten nicht alle Beobachtungen in einem Datensatz vereinigt werden. Daher wurden folgende Datensätze definiert:

1. KOMPL

Zusammengefaßt wurden die Daten der Patientenproben, aus denen alle 4 Inhibitoraktivitäten bestimmt worden waren. Die Angabe der Inhibitoraktivitäten erfolgte in IU/ml. Es handelt sich um folgende Patienten:

Gruppe A: 59, 60, 63, 65

Gruppe B: 46, 62, 72, 92

Gruppe C: 40, 64, 66, 70

2. KOM 99

Wie KOMPL, wobei aber die Patienten, bei denen keine Plasmaproben vor der Operation vorlagen, weggelassen wurden. Somit verblieben in:

Gruppe A: 59, 60, 63, 65

Gruppe B: 62, 92

Gruppe C: 64, 66

3. KOM 100

wie KOM 99, mit dem Unterschied, daß alle Inhibitoraktivitäten normiert wurden. Die Angabe erfolgte in % des jeweiligen Wertes vor dem chirurgischen Eingriff.

4. ALLI

Der Datensatz erhielt nur Meßwerte für α_M , die Einheit war IU/ml. Zusätzlich zu den unter KOMPL aufgeführten Daten wurden Ergebnisse weiterer Patienten aufgenommen. Die einzelnen Gruppen umfaßten folgende Patienten:

Gruppe A: 59, 60, 63, 65, 102, 107, 108, 109, 111, 116

Gruppe B: 46, 62, 68, 71, 72, 82, 83, 92

Gruppe C: 21, 40, 61, 64, 66, 70, 77, 112, 118

5. ALL101

Wie ALL1, wobei aber Patienten, bei denen vor der Operation die α_2 M-Aktivität nicht bestimmt wurde, weggelassen wurden.

Die Werte wurden sowohl in IU/ml als auch normiert auf den Wert vor der Operation in % angegeben. Folgende Patienten verblieben:

Gruppe A: 69, 60, 63, 65, 107, 108, 109, 111, 116

Gruppe B: 62, 68, 82, 92

Gruppe C: 61, 64, 66, 77, 118,

Die Berechnungen wurden mit dem Programm "Analysis of Variance" von Hewlett Packard durchgeführt. Die Bestellnummern der Kassetten sind 09845-15174 und 09845-15175, die Programme und Rechenvorgänge sind im Handbuch, Bestell-Nr. 09845-15171 der gleichen Firma beschrieben.

Beschreibungen der statistischen Verfahren sind bei Sachs (58) nachzulesen. Die Berechnung des Mittelwertes, des Medians, der Standardabweichung und des Variationskoeffizienten sind dort in Kapitel 1, die der Regressionsanalyse in Kapitel 5, der Konfidenzintervalle der Mittelwerte in Kapitel 3 und der Varianzanalyse zum Vergleich mehrerer Mittelwerte in Kapitel 7 ausführlich dargestellt.

6. ERGEBNISSE

6.1. BEWERTUNG DER VERWENDETEN BESTIMMUNGSMETHODEN

In diesem Abschnitt wurde untersucht, ob die Bestimmungsmethoden zu zuverlässigen und richtigen Ergebnissen führten.

Unter "zuverlässig" wird die Reproduzierbarkeit verstanden. Wichtigstes Beurteilungskriterium war die Streuung der Meßwerte bei Mehrfachbestimmung ein und derselben Probe. Quantifiziert wurde die Streuung durch die Berechnung des Variationskoeffizienten.

Unter "richtig" wird verstanden, daß der erhaltene Meßwert den wahren Gehalt an Inhibitor in der Probe widerspiegelt (wichtig, da bei methodischen Schwächen auch "falsche Ergebnisse" mit guter Reproduzierbarkeit, d.h. Präzision, gemessen werden können!). Als Beurteilungskriterien wurden herangezogen:

- a) die Wiederfindung in Kontrollseren mit bekanntem Gehalt an Inhibitoraktivität und
- b) Methodenvergleiche.

6.1.1. PRÄZISIONSUNTERSUCHUNGEN

Ziel der Experimente war zu bestimmen, mit welcher Genauigkeit die untersuchten Parameter gemessen wurden. Diese Versuche wurden größtenteils mit kommerziell erhältlichen Kontrollplasmen (Pre-

cichrom I und II von Boehringer Mannheim mit bekannten Sollwertintervallen) durchgeführt. Die Ergebnisse dienten zur Kontrolle (Zuverlässigkeit) des Testsystems.

Die Sollwerte der eingesetzten Kontrollplasmen sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die Angaben in IU/ml beziehen sich auf die jeweils angewendeten Testbedingungen (siehe "Methodik"). Die Werte in den Klammern stellen den sogenannten Vertrauensbereich dar, der als Schwankung von $\pm 20\%$ um den Sollwert definiert ist.

Parameter	Precichrom I	Precichrom II
α_2M	4,14 (3,32 - 4,96)	2,28 (1,83 - 2,73)
α_1PI	1,17 (0,94 - 1,40)	0,61 (0,49 - 0,73)
ATIII	8,13 (6,50 - 9,76)	4,25 (3,40 - 5,10)
α_2PI	0,82 (0,65 - 0,98)	0,40 (0,32 - 0,48)

Tabelle 2: Sollwerte von Precichrom I und II (in IU/ml). Werte in Klammern geben den Vertrauensbereich wieder (Sollwert $\pm 20\%$).

6.1.1.1. α_2 M-TEST

a) Aktivitätsbestimmung, manuelle Version

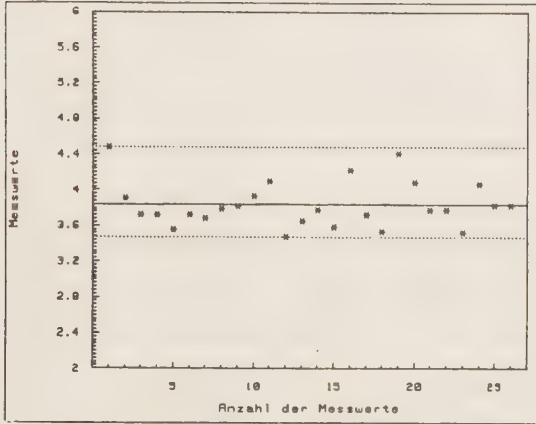
Precichrom I wurde 26 mal an einem Tag vermessen. Der gefundene Mittelwert betrug 3,83 IU/ml. Der beobachtete Variationskoeffizient war 7%. Laut Herstellerangaben liegt der Sollwert bei 4,14 IU/ml mit einem zulässigen Streubereich von 3,32 - 4,96 IU/ml.

Die Meßwerte sind in Abb. 3 graphisch dargestellt. Aufgetragen sind die jeweiligen Messwerte auf der X-Achse (Messung 1 - 26) gegen die gefundene Aktivität (Y-Achse). Die durchgezogene Linie gibt den Mittelwert an, die gestrichelten Linien oberhalb bzw. unterhalb des Mittelwertes begrenzen den höchsten bzw. niedrigsten beobachteten Meßwert. Die Anzahl der Messungen wird mit N gekennzeichnet, der Mittelwert mit MW, der Variationskoeffizient mit VK und der Median mit Med. Diese Abkürzungen gelten für alle weiteren Abbildungen des Kapitels 6.1.1.

Gleiche Untersuchungen wurden mit Precichrom II in 18fach Bestimmung durchgeführt. Hier liegt der Sollwert laut Herstellerangaben bei 2,28 IU/ml, mit einem Toleranzbereich von 1,83-2,73 IU/ml. Gefunden wurden 2,14 IU/ml, der Variationskoeffizient betrug 2,4 %. In Abb. 4 sind die Meßwerte dargestellt.

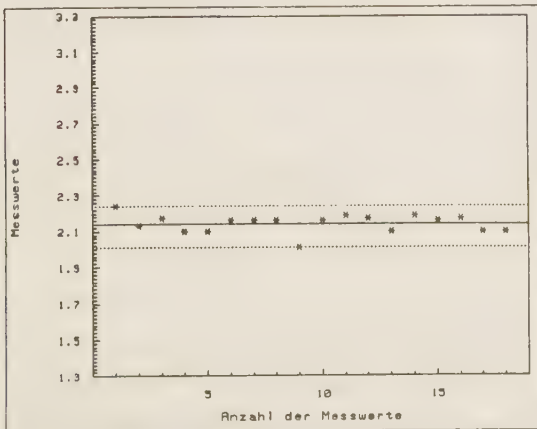
Zur Absicherung wurden die Experimente an einem anderen Tag wiederholt. Dargestellt sind die Messungen beider Tage für Precichrom I in Abb. 5. Mittelwert und Variationskoeffizient ver-

änderten sich nicht. Auch bei Precichrom II änderte sich der Mittelwert nicht (siehe Abb. 6), jedoch stieg der Variationskoeffizient von 2,4 auf 5,7 % an.



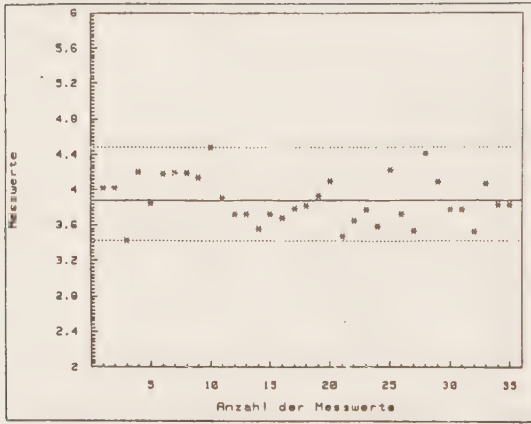
N = 26; MW ± 2S = 3.834 ± .519; S = .259; VK = 6.76%; Med. = 3.7

Abb.3: α_2 M-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom I als Qualitätskontrolle: manueller Test, Präzision in der Serie



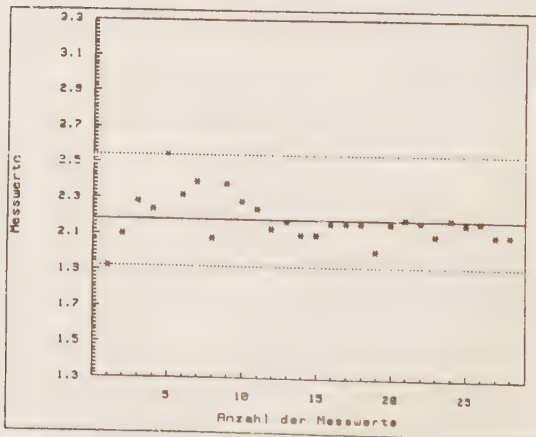
N = 18; MW ± 2S = 2.143 ± .102; S = .051; VK = 2.39%; Med. = 2.1

Abb.4: α_2 M-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom II als Qualitätskontrolle: manueller Test, Präzision in der Serie



$N = 35$; $MW \pm 2S = 3.883 \pm .536$; $S = .268$; $VK = 6.90\%$; $Med. = 3.830$

Abb.5: α_2M -Test, Wiederholung der Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom I: manueller Test, Präzision von Tag zu Tag



$N = 28$; $MW \pm 2S = 2.182 \pm .247$; $S = .123$; $VK = 5.65\%$; $Med. = 2.160$

Abb.6: α_2M -Test, Wiederholung der Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom II : manueller Test, Präzision von Tag zu Tag

Fazit:

Das manuelle Testsystem war in Ordnung, da:

- die Sollwerte der Kontrollplasmen innerhalb des erlaubten Streubereichs wiedergefunden wurden,
- keiner der Einzelwerte außerhalb des erlaubten Streubereichs von $\pm 20\%$ um den Mittelwert lag,
- Mittelwert und Median übereinstimmten, sodaß von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann,
- sowohl bei normalen als auch bei erniedrigten α_2 M-Aktivitäten im Plasma bei der manuellen Bestimmung mit einem Variationskoeffizienten bis zu 7% zu rechnen ist.

b) Aktivitätsbestimmung; Automatenversion

Abweichend zum Versuchsprotokoll bei der manuellen Testversion wurde bei der automatischen Testversion nach je 20 Patientenproben Precichrom I und Precichrom II als Qualitätskontrolle eingesetzt, d. h. die Kontrollplasmen wurden nicht in Serie direkt hintereinander vermessen. Die gewählte Versuchsanordnung erlaubte es daher, die Richtigkeit und Präzision über alle am Automaten vermessenen Proben zu bestimmen.

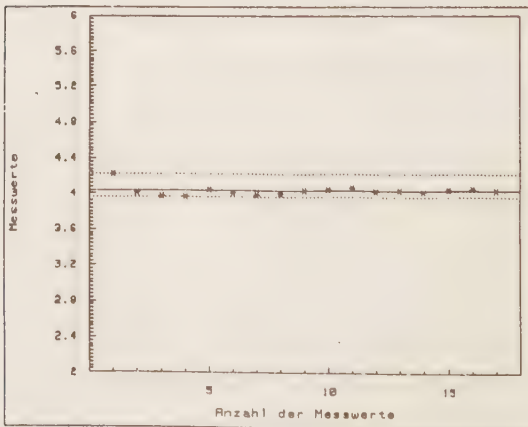
Die Daten für Precichrom I sind in Abb. 7 aufgezeichnet. Der Sollwert ($4,14$ IU/ml) wird mit einem Mittelwert von $4,03$ IU/ml wiedergefunden. Weiterhin kann die Präzision mit einem Variationskoeffizienten von ca. $1,4\%$ als sehr gut bezeichnet werden.

Bei Precichrom II wird der Sollwert von 2,28 IU/ml mit einem Mittelwert von 2,3 IU/ml bestimmt. Ein Variationskoeffizient von ca. 3% spricht für eine hohe Meßgenauigkeit (siehe Abb. 8).

Fazit:

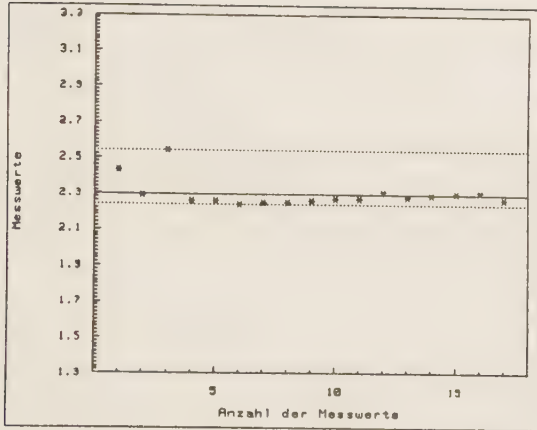
Das gewählte Automaten-system zur Bestimmung von α_2M war in Ordnung da:

- die Sollwerte von Kontrollplasmen über die gesamte Meßreihe richtig wiedergefunden wurden,
- keiner der beobachteten Werte mehr als $\pm 20\%$ vom Mittelwert abwich (siehe Abb. 7 und 8),
- Mittelwert und Median übereinstimmten,
- die Präzision der Bestimmung sowohl im Normbereich als auch im erniedrigten Bereich mit Variationskoeffizienten von 1,4 bzw 3,3 % als gut zu bezeichnen ist.



N = 17; $MH \pm 2S = 4.035 \pm .115$; S = .059; VK = 1.43%; Med. = 4.040

Abb.7: α_2M -Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom I als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie



$N = 17$; $MW \pm 2S = 2.299 \pm .151$; $S = .076$; $VK = 3.29\%$; $Med. = 2.270$

Abb.8: α_2M -Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom II als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie

c) Konzentrationsbestimmung; radiale Immundiffusion

Precichrom I und Precichrom II wurden in Serie auf einer Platte in 4fach-Bestimmung gemessen. Dazu wurden je zwei Flaschen Kontrollserum (Flasche A und Flasche B) verwendet. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 3 zusammengestellt.

Flasche	Precichrom I (mg/100 ml)	Precichrom II (mg 100 ml)
A	132	75
B	132	72,8

Tabelle 3: α_2 M-Bestimmung mittels radialer Immundiffusion

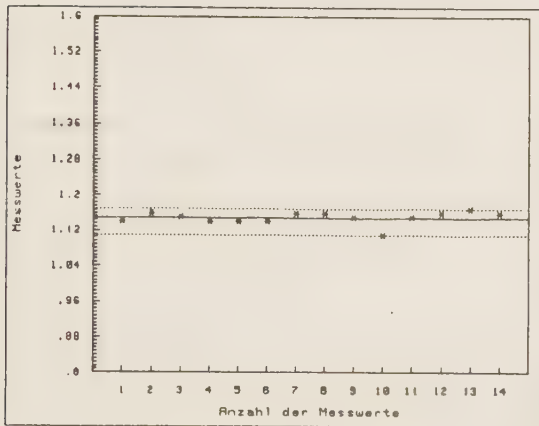
Es wurde darauf verzichtet, den Variationskoeffizienten zu berechnen, da die Anzahl der Messungen ($n = 4$) zu gering war.

6.1.1.2. α_1 PI-TEST.

Nach je 15 Proben wurde die eingesetzte Trypsinaktivität in Dreifachbestimmung ermittelt, gefolgt von den beiden Kontrollplasmen Precichrom I und Precichrom II in Einfachbestimmung. Die α_1 PI-Aktivitäten sowohl der Kontrollplasmen als auch der Proben wurden mit den jeweils vorher gemessenen Trypsinaktivitäten berechnet.

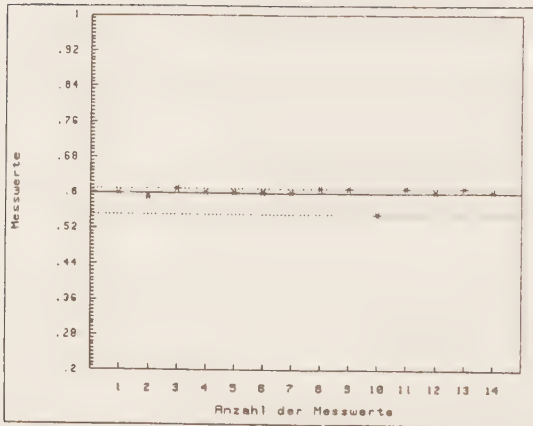
Die Meßdaten der Einfachbestimmungen von Precichrom I sind in Abb.9 aufgetragen. Der gefundene Mittelwert von 1,15 IU/ml trifft den Sollwert von 1,17 IU/ml (Tab.2) recht gut. Auch ist die Streuung der Meßergebnisse mit einem Variationskoeffizienten von 1,3 % als ausgesprochen gering zu bezeichnen.

Gleiche Daten sind für den deutlich erniedrigten α_1 PI-Aktivitätsbereich (Precichrom II) in Abb. 10 dargestellt. Auch hier liegt der gefundene Mittelwert von 0,60 IU/ml sehr nahe am Sollwert von 0,61 IU/ml. Die Präzision der Meßergebnisse kann mit dem Variationskoeffizienten von 2,6 % als gut eingestuft werden.



N = 14; $\overline{MW} \pm 2S = 1.149 \pm .030$; S = .015; VK = 1.30%; Med. = 1.150

Abb.9: α_1 PI-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom I als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie



N = 14; $\overline{MW} \pm 2S$ = .599 $\pm$.031; S = .015; VK = 2.57%; Med. = .600

Abb. 10: α_1 PI-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom II als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie

Fazit:

Das Analysensystem zur Bestimmung von α_1 PI lieferte sowohl im Normalbereich als auch bei niedriger Inhibitoraktivität verlässliche Meßergebnisse da:

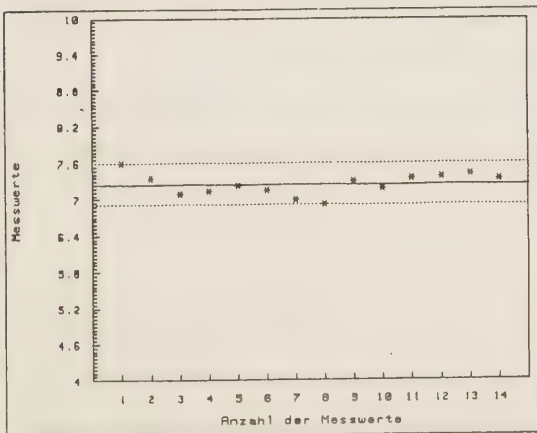
- die Sollwerte von Precichrom I und Precichrom II über die gesamte Meßreihe richtig wiedergefunden wurden,
- kein einziger Wert außerhalb des Vertrauensbereiches lag,
- Mittelwert und Median gut übereinstimmen,
- die Präzision des Tests sowohl im Normalbereich als auch im erniedrigten Bereich sehr gut war.

6.1.1.3. ATIII-TEST

Nach je 15 Proben wurde sowohl die eingesetzte Thrombinaktivität (Dreifachbestimmung) und die Kontrollplasmen Precichrom I/II (Einfachbestimmung) vermessen.

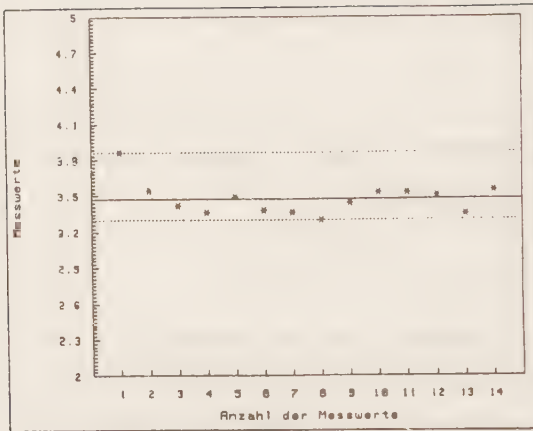
Abb. 11 zeigt die Wiederfindung von Precichrom I. Der Mittelwert von 7,24 IU/ml lag innerhalb des Vertrauensbereiches (Sollwert 8,13 IU/ml). Die Streuung der Einzelbestimmungen mit einem Variationskoeffizienten 2,5 % war als gut zu bezeichnen.

Entsprechende Daten für Precichrom II sind aus der Abb. 12 zu ersehen. Die Wiederfindung des Sollwertes (Tab. 2) lag eher im unteren Bereich (Vertrauensbereich 3,40-5,10 IU/ml, gefundener Mittelwert 3,47 IU/ml). Die Präzision war mit einem Variationskoeffizienten von ca. 4 % zufriedenstellend.



$n = 14.00$; $MW \pm 2S = 7.242 \pm 0.364$; $S = .182$; $VK = 2.51\%$; $Med. = 7.265$

Abb.11: AT III-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom I als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie



N = 14.00; MH±2S = 3.471 ±.277; S = .139; VK = 3.99%; Med. = 3.465

Abb.12: AT III-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom II als Qualitätskontrolle, Automatenversion, Präzision in der Serie

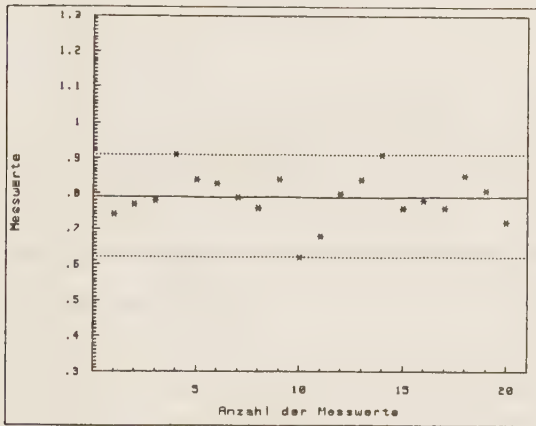
Fazit:

- Die gefundenen Sollwerte von Precichrom I und Precichrom II lagen im Vertrauensbereich.
- Mittelwert und Median stimmten überein.
- Die Präzision des Tests war bei beiden Kontrollplasmen gut bis zufriedenstellend.

6.1.1.4. α_2 PI-TEST

Die Versuchsanordnung entsprach weitgehend der der α_2 M Automatenversion. Abweichend davon wurde nach jeweils 21 Proben die Plasminaktivität in Doppelbestimmung überprüft und die nachfolgend gemessenen Kontrollplasmen bzw. Proben auf diesen neuen Plasminwert bezogen.

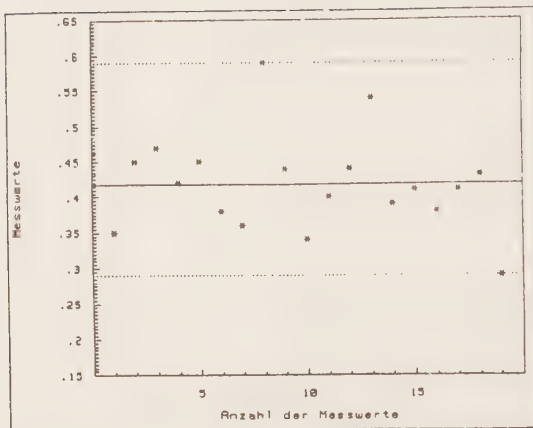
In Abb. 13 sind die Meßwerte für Precichrom I (Normalbereich) gezeigt. Der Sollwert von 0,82 IU/ml (Tab.2) wird recht gut erreicht (Mittelwert 0,79 IU/ml). Die Streuung der Meßergebnisse mit einem Variationskoeffizienten von ca. 9 % ist allerdings als sehr hoch einzustufen.



N = 20; $MH \pm 2S$ = .790 $\pm$.140; S = .070; VK = 8.89%; Med. = .785

Abb.13: α_2 PI-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom I als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie

Gleiches ist in Abb. 14 für Precichrom II (deutlich erniedrigter Bereich) aufgetragen. Zwar wird auch hier der Sollwert von 0,4 IU/ml mit einem Mittelwert von 0.42 IU/ml recht gut getroffen, jedoch sind die beobachteten Streuungen um den Mittelwert mit einem Variationskoeffizienten von ca. 16 % extrem hoch.



N = 19; $\overline{MW} \pm 2S$ = .418 $\pm$.137; S = .069; VK = 16.44%; Med. = .410

Abb.14: α_2 PI-Test, Aktivitätsbestimmung (IU/ml) bei Precichrom II als Qualitätskontrolle: Automatenversion, Präzision in der Serie

Fazit:

Das Automaten-system zur Bestimmung von α_2 PI ergab nur im Normalbereich verlässliche Werte da:

- zwar die Sollwerte bei Precichrom I und Precichrom II über die gesamte Meßreihe richtig bestimmt wurden,
- Mittelwerte und Median übereinstimmen,
- im Normalbereich nur ein Wert von 20 außerhalb des Vertrauensbereiches (0,65 - 0,98 IU/ml) mit 0,62 IU/ml lag, während im erniedrigten Bereich 3 von 20 Werten mit 0,29 IU/ml, 0,54 IU/ml und 0,59 IU/ml außerhalb des Toleranzbereiches von 0,32 - 0,48 IU/ml gemessen wurden,

- die Präzision im Normalbereich mit einem Variationskoeffizienten von 9 % gerade noch akzeptabel war, jedoch im erniedrigten Bereich mit einem Variationskoeffizienten von 16 % zu wünschen übrig ließ.

6.1.2. α_2 M-TEST, UNTERSUCHUNGEN VON TESTSTÖRUNGEN

Untersucht wurde lediglich ob häufig verwendete Plasmaexpander die manuelle photometrische Bestimmung von α_2 M beeinflussen. Dabei wurde davon ausgegangen, daß einem Patienten maximal 1000 ml/Stunde infundiert wird, sodaß im Extremfall mit einer Verdünnung des Blutes von 16 % zu rechnen ist (angenommenes Blutvolumen 5 l). Die Ergebnisse (Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen) sind in Tabelle 4 dargestellt.

Zusatz	Precichrom I (IU/ml)	Precichrom II (IU/ml)
0,9 % NaCl	3,67	1,99
Haemacel	3,88	2,06
Macrodex	3,73	2,06
Reomacrodex	3,69	2,00
Plasmasteril	3,61	2,18

Tabelle 4: α_2 M-Test: Einfluß von Plasmaexpandern

Der erwartete Wert beträgt 3,5 IU/ml zw. 1,91 IU/ml (Sollwert Precichrom I von 4,14 IU/ml - 16 %; und Sollwert von Precichrom II von 2,28 IU/ml - 16 %). Die Tabelle zeigt, daß die erwarteten Werte im Rahmen der Vertrauensbereiche bei allen untersuchten Plasmaexpandern getroffen wurden.

Fazit:

- Mit Teststörungen durch Plasmaexpander ist bei der photometrischen Bestimmung von α_2M nicht zu rechnen.

6.1.3. METHODENVERGLEICH: α_2M -BESTIMMUNGEN

In den vorausgegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß α_2M mit dem optischen Test präzise bestimmt wurde, und daß weiterhin die Sollwerte der Kontrollplasmen richtig wiedergefunden wurden. Die Kontrollplasmen sind wegen ihrer Vorbehandlung (lyophilisiertes Plasma) jedoch nicht mit den in diese Untersuchung eingesetzten Plasmen zu vergleichen. Daher war die Frage offen, ob mit dem photometrischen α_2M -Test bei den hier vermessenen Plasmen die richtigen Werte gefunden wurden. Zur Abklärung wurde ein Kollektiv von 42 Plasmen mit einer unabhängigen Methode, nämlich der radialen Immundiffusion vermessen. In Abb. 15 sind die mittels radialer Immundiffusion gefundenen Werte (Y-Achse) gegen die mit dem optischen Test ermittelten Werte (X-Achse) aufgetragen. Die beobachtete Streuung um die Regressionsgerade ($r = 0,937$) spricht für eine gute Übereinstimmung beider Methoden.

Fazit:

- Radiale Immundiffusion und optischer Test ergaben gut übereinstimmende Werte
- Beobachtete Abweichungen sind zurückzuführen auf:
 - a) die Fehler, mit denen jede der beiden Methoden behaftet ist
 - b) die unterschiedlichen Prinzipien zur Erkennung von α_2M (optischer Test: Messung der funktionellen Aktivität; radiale Immundiffusion: Messung der immunologischen Aktivität). Die dennoch übereinstimmenden Werte sprechen für eine rasche Elimination der inaktiven Proteinase-Inhibitor-Komplexe (53)] aus dem Blutkreislauf, weshalb auch immunologisch überwiegend nur aktive α_2M -Moleküle erfaßt

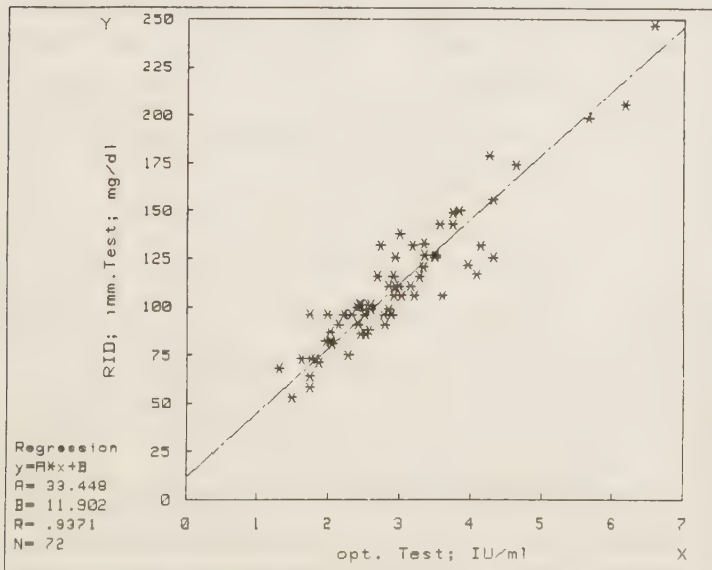


Abb.15: α_2M Bestimmungen; die mittels radialer Immundiffusion gefundenen Werte (Y-Achse) sind gegen die mit dem optischen Test ermittelten Werte (X-Achse) aufgetragen.

6.1.4. METHODENVERGLEICH: ATIII-BESTIMMUNGEN

Wie bei α_2M wurde auch bei ATIII mittels einer unabhängigen Methode überprüft, ob der photometrische Test richtige Werte lieferte. 61 Plasmen wurden sowohl mit dem optischen Test als auch mit der radialen Immundiffusion vermessen.

Zunächst wurde mit allen erhobenen Daten eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Wie in Abb. 16 gezeigt, streuten die Werte stärker um die Gerade als beim α_2M -Test. Dies beschreibt auch der Korrelationskoeffizient von nur 0,90.

Um beurteilen zu können, inwieweit die in Abb. 16 gezeigte Streuung um die Regressionsgerade beim optischen Test zu verlässlichen ATIII-Aktivitäten führt, wurde der Verlauf der ATIII-Konzentrationen und der ATIII-Aktivitäten über die Zeit für jeden der Patienten aufgezeichnet.

Als Beispiel wurden in Abb. 17 der Verlauf für Patient 63 (Gruppe A), in Abb. 18 der für Patient 46 (Gruppe B) und in Abb. 19 der für Patient 40 (Gruppe C) dargestellt.

Aufgetragen wurden die Aktivitäten in IU/ml (Skala 0 -10, Abb. 18 und 19) bzw. die Konzentrationen in mg /dl (Skala 0 - 30 bzw. 0-25) auf der Y-Achse gegen den Tag der Probennahme (X-Achse). Wie zu sehen ist, verliefen ATIII-Konzentration und ATIII-Aktivitäten nicht immer parallel zueinander.

Fazit:

- Radiale Immundiffusion und optischer Test ergaben nicht immer gut übereinstimmende Ergebnisse.
- Die beobachteten Abweichungen sind offensichtlich auf die im Vergleich zu den α_2 M-Proteinase-Komplexen wesentlich langsamere Elimination der ATIII Proteinase-Komplexe aus der Zirkulation zurückzuführen. Hierdurch werden immunologisch auch inaktive ATIII Moleküle erfaßt.

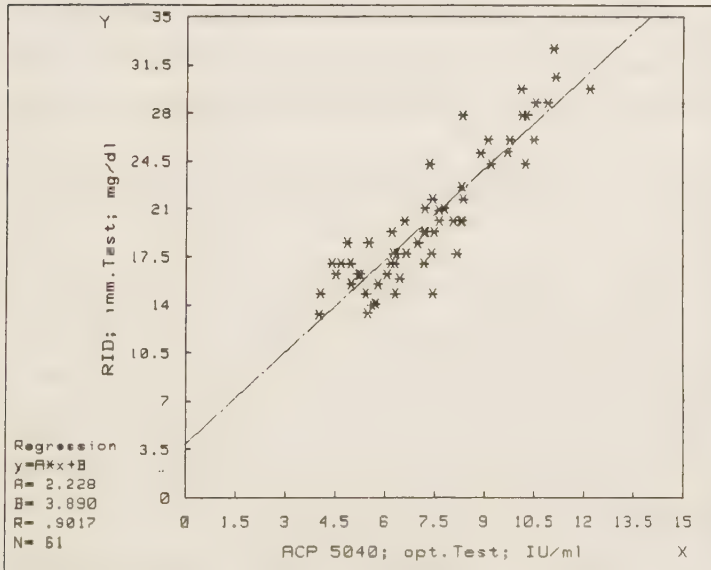


Abb.16: AT III Bestimmungen; die mittels radialer Immundiffusion gefundenen Werte (Y-Achse) sind gegen die mit dem optischen Test ermittelten Werte (X-Achse) aufgetragen.

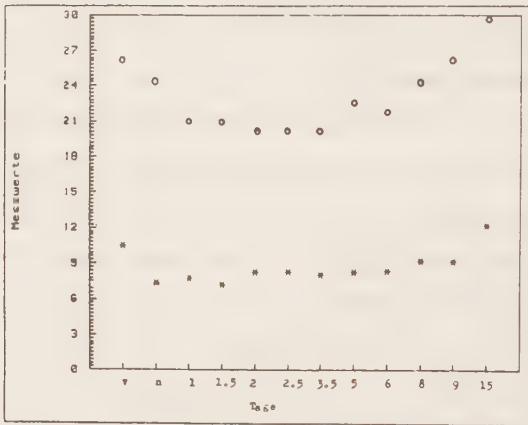


Abb.17: Verlauf der ATIII Konzentration (Symbol o) und der ATIII Aktivität (Symbol *) bei dem Patienten Nr. 63 (Gruppe A) X Achse: Tage nach der Operation Y Achse: Meßwerte in mg/dl bzw in IU/ml

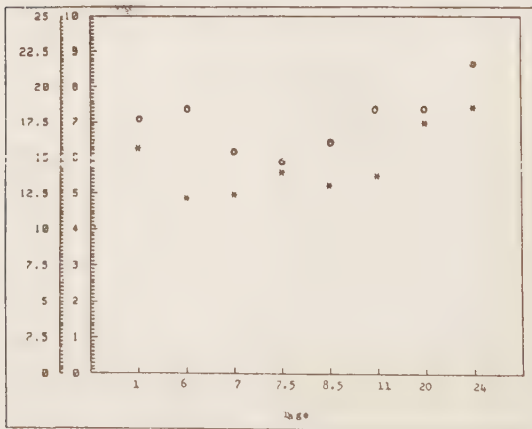


Abb.18: Verlauf der ATIII Konzentration (Symbol o) und der ATIII Aktivität (Symbol *) bei dem Patienten Nr. 46 (Gruppe B), X-Achse: Tage nach der Operation; Y Achse: Skalierung 0-25 mg/dl bzw 0-10 IU/ml

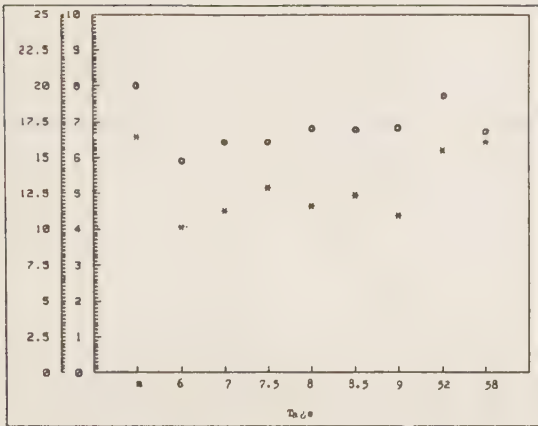


Abb.19: Verlauf der ATIII Konzentration (Symbol o) und der ATIII Aktivität (Symbol *) bei dem Patienten Nr. 40 (Gruppe C), X-Achse: Tage nach der Operation; Y-Achse Skalierung wie in Abb.18

6.2. INHIBITOR-AKTIVITÄTEN VOR UND WÄHREND SEPSIS

Nachdem im vorhergehenden Abschnitt gezeigt worden war, daß die verwendeten Bestimmungsmethoden ausreichend präzise und verlässliche Ergebnisse lieferten, werden in diesem Abschnitt die gemessene Inhibitoraktivitäten statistisch ausgewertet. Die neu eingeführte Variablen waren spezifische Randbedingungen, unter denen Daten zu Datengruppen zusammengefaßt wurden. Die Datengruppen wurden sowohl untereinander als auch mit dem Normbereich verglichen. Ziel war Randbedingungen zu finden, unter denen sinnvolle signifikante Unterschiede auftraten. Dabei wurde schrittweise von summarischer zu detaillierter Betrachtung übergegangen. Analysiert wurde zunächst der Datensatz KOMPL, danach sukzessive die anderen Datensätze.

6.2.1. SUMMARISCHE STATISTISCHE BETRACHTUNGEN

Im vorliegenden Abschnitt wurden alle Daten jedes einzelnen Patienten analysiert, d. h. gemittelt wurde über den gesamten Krankheitsverlauf von der ersten bis zur letzten Messung. Dabei wurden folgende Datenmengen definiert:

a) Gesamtkollektiv

b) das Gesamtkollektiv wurde in 3 Untermengen aufgeteilt, wobei eine Untermenge alle Daten einer Patientengruppe enthielt und

c) das Gesamtkollektiv wurde in 12 Untermengen aufgeteilt, wobei eine Untermenge alle Daten eines Patienten enthielt.

6.2.1.1. GESAMTKOLLEKTIV

Verglichen wurden die Mittelwerte an Inhibitoraktivitäten, berechnet aus dem Datensatz KOMPL, mit den jeweiligen Normbereichen. Normbereiche, Stichprobenumfang (n) Mittelwert (x) Standardabweichung des Mittelwertes (SD) und das 99 % Konfidenzintervall des Mittelwertes (99 % Konf. x) sind in der Tabelle 5 aufgeführt.

Fazit:

Mit einer Wahrscheinlichkeit > 99 % lag der Mittelwert:

- bei α_2M und ATIII unter dem Normbereich,
- bei α_2PI im Normbereich,
- bei α_1PI über dem Normbereich.

Inhibitor	α_2M	α_1PI	ATIII	α_2PI
Normbereich	3,9-8,1	1,4-2,1	10-15	0,8-1,2
n	205	205	203	204
x	3,53	2,38	7,14	1,05
SD	0,81	0,51	2,0	0,17
99%	3,39-	2,29-	6,78-	1,02-
Konf.x	3,68	2,47	7,51	1,09

Tabelle 5: Vergleich Gesamtkollektiv zu Normbereichen, Angaben in IU/ml

6.2.1.2 PATIENTENGRUPPEN

Untersucht wurde am Datensatz KOMPL:

- a) ob sich die Mittelwerte der Gruppen A, B und C von den Normbereichen unterscheiden und
- b) ob sich die Mittelwerte der Gruppen untereinander unterscheiden.

a) Vergleich zu Normbereichen

Die Daten sind in den Tabellen 6 bis 8 aufgeführt.

Inhibitor	α_2 M	α_1 PI	ATIII	α_2 PI
Normbereich	3,9-8,1	1,4-2,1	10-15	0,81,2
n	54	54	54	54
x	3,29	2,23	8,88	1,11
SD	0,60	0,44	1,41	0,16
99%	3,07-	2,07-	8,37-	0,05-
Konf.x	3,51	2,40	9,36	1,17

Tabelle 6: Gruppe A, Vergleich zum Normbereich (Angaben in IU/ml)

Inhibitor	α_2 M	α_1 PI	ATIII	α_2 PI
Normbereich	3,9-8,1	1,4-2,1	10-15	0,8-1,2
n	68	68	67	67
x	3,85	2,47	7,10	1,07
SD	0,99	0,63	1,66	0,15
99%	3,54-	2,27-	6,56-	1,02-
Konf.x	4,17	2,70	7,64	1,12

Tabelle 7: Gruppe B: Vergleich zum Normbereich (Angaben in IU/ml)

Inhibitor	$\alpha_2\text{M}$	$\alpha_1\text{PI}$	ATIII	$\alpha_2\text{PI}$
Normbereich	3,9-8,1	1,4-2,1	10-15	0,8 -1,2
n	83	83	82	83
x	3,43	2,40	6,01	1,01
SD	0,68	0,43	1,80	0,18
99%	3,24-	2,28-	5,49-	0,96-
Konf.x	3,62	2,52	6,54	1,06

Tabelle 8: Gruppe C: Vergleich zum Normbereich (Angaben in IU/ml)

Fazit:

Mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % lag der Mittelwert:

- von $\alpha_2\text{M}$ in den Gruppen A und C unter dem Normbereich, während bei Gruppe B das Konfidenzintervall bis an die untere Grenze des Normbereichs heranreichte.
- von ATIII bei allen Gruppen unter dem Normbereich.
- von $\alpha_1\text{PI}$ bei allen Gruppen über dem Normbereich.
- von $\alpha_2\text{PI}$ bei allen Gruppen im Normbereich.

Mit dem Datensatz ALL I wurde geprüft, ob bei Hinzunahme weiterer Patienten die mit dem Datensatz KOMPL erhaltenen Ergebnisse bei $\alpha_2\text{M}$ bestätigt werden. Die Resultate sind in Tabelle 9 dargestellt.

Gruppe	A	B	C
Normbereich	3,9 - 8,1		
n	21	105	148
x(IU/ml)	3,27	3,80	3,19
SD	0,71	1,10	0,83
99% Konf x	3,10-3,44	3,52-4,08	3,01-3,37

Tabelle 9: α_2 M, erweiterter Datensatz: Vergleich zum Normbereich
(Angaben in IU/ml)

Fazit:

- Bei Erweiterung des Patientenkollektives ändert sich die getroffene Aussage nicht
- Bei gruppenweiser Betrachtung werden keine wesentlichen Unterschiede zum Gesamtkollektiv festgestellt, d. h. die Streubreiten innerhalb der Gruppen entsprechen denen des Gesamtkollektivs

b) Vergleich der Mittelwerte innerhalb der Gruppen

Unter Zugrundelegung des Datensatzes KOMPL wurde geprüft, ob die Mittelwerte der einzelnen Gruppen voneinander unterschiedlich sind. Der kleinste signifikante Unterschied zwischen den Gruppen wurde errechnet.

Fazit:

- Bei α_2 M lag der Mittelwert der Gruppe B signifikant über dem von Gruppe A bzw. C. Gruppe A unterschied sich nicht von Gruppe C ($p < 0,01$).

- Eine eindeutige Abstufung war bei ATIII zu sehen. Der Mittelwert der Gruppe A war signifikant höher als der von Gruppe B, dieser lag wiederum signifikant höher als der von Gruppe C ($p < 0,001$).
- Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der drei Gruppen bei $\alpha_1\text{PI}$ und $\alpha_2\text{PI}$ ($p < 0,001$).

Mit dem erweiterten Datensatz ALL I wurde die für $\alpha_2\text{M}$ getroffene Aussage überprüft.

Fazit:

- Die Aussage konnte bestätigt werden.

6.2.1.3. EINZELNE PATIENTEN

Analog zu dem vorhergegangenen Abschnitt 6.2.1.2. wurden die Patienten-bezogenen Mittelwerte an Inhibitoraktivitäten

- a) mit den Normbereichen und
- b) untereinander verglichen.

Zugrunde gelegt wurde der Datensatz KOMPL.

a) Vergleich zu den Normbereichen

Es wurden für jeden einzelnen Patienten die gleichen Betrachtungen, wie unter Punkt 6.2.1.1 beschrieben, angestellt. Eine Zusammenfassung ist in Tabelle 10 wiedergegeben.

Gruppe	Pat.Nr.	Parameter	n	x	SD	99% Konf. x
A	59	α_2M	14	2,79	0,50	2,88-3,19
A	60	"	11	4,02	0,37	3,66-4,37
A	63	"	15	2,95	0,31	2,71-3,18
A	65	"	14	3,59	0,20	3,43-3,75
B	46	"	11	3,05	0,27	2,80-3,31
B	62	"	17	4,43	0,81	3,80-5,00
B	72	"	15	3,72	0,75	3,15-4,38
B	92	"	25	3,90	1,17	3,24-4,55
C	40	"	11	2,64	0,63	2,03-3,25
C	64	"	23	3,86	0,69	3,45-4,26
C	66	"	24	3,64	0,60	3,20-4,31
C	70	"	25	3,18	0,24	3,05-3,31
A	59	α_1PI	14	2,16	0,28	1,93-2,38
A	60	"	11	1,90	0,28	1,63-2,17
A	63	"	15	2,59	0,49	2,21-2,97
A	65	"	14	2,20	0,38	1,89-2,50
B	46	"	11	3,00	0,29	2,72-3,28
B	62	"	17	2,32	0,49	1,97-2,67
B	72	"	15	2,16	0,39	1,85-2,46
B	92	"	25	2,51	0,77	2,08-2,95
C	40	"	11	2,60	0,51	2,10-3,09
C	64	"	23	2,49	0,46	2,21-2,77
C	66	"	24	2,37	0,38	2,16-2,59
C	70	"	25	2,25	0,36	2,05-2,46
A	59	ATIII	14	7,99	1,48	6,79-9,17
A	60	"	11	10,28	0,67	9,64-10,92
A	63	"	15	8,86	1,35	7,82-9,89
A	65	"	14	8,76	1,02	7,94-9,58
B	46	"	11	5,8	0,88	4,96-6,64
B	62	"	17	8,03	1,61	6,89-9,18
B	72	"	15	7,44	1,03	6,64-8,23
B	92	"	24	6,83	1,88	5,75-7,91
C	40	"	11	5,35	1,11	4,29-6,41
C	64	"	22	7,43	1,60	6,46-8,40
C	66	"	24	6,18	1,20	5,36-7,01
C	70	"	25	4,71	1,64	3,82-5,60
A	59	α_2PI	14	1,08	0,12	0,98-1,18
A	60	"	11	1,03	0,07	0,96-1,09
A	63	"	15	1,14	0,15	1,01-1,26
A	65	"	14	1,16	0,24	0,96-1,34
B	46	"	11	0,94	0,09	0,84-1,03
B	62	"	17	1,06	0,13	0,97-1,15
B	72	"	15	1,12	0,17	0,99-1,25
B	92	"	24	1,10	0,13	1,02-1,17
C	40	"	11	0,92	0,13	0,79-1,04
C	64	"	23	1,11	0,20	0,99-1,23
C	66	"	24	1,00	0,14	0,92-1,08
C	70	"	25	0,95	0,17	0,87-1,05

Tabelle 10: Mittelwerte der Inhibitoraktivitäten für jeden Patienten, Angaben in IU/ml

Fazit:

Mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 %:

- lagen bei α_2M 7 von 12 Mittelwerten unter dem Normbereich.
Das Konfidenzintervall von 5 Mittelwerten (1 x Gruppe A, 3 x Gruppe B und 1 x Gruppe C) überlappte mit dem unteren Normbereich.
- lagen bei ATIII 11 von 12 Mittelwerten unter dem Normbereich.
Das Konfidenzintervall des Mittelwertes eines Patienten der Gruppe A überlappte mit dem unteren Normbereich.
- lagen bei α_1PI 5 von 12 Mittelwerten über dem Normbereich.
Das Konfidenzintervall des Mittelwertes überlappte in 7 Fällen (3 x Gruppe A, 3 x Gruppe B, 1 x Gruppe C) mit dem oberen Normbereich.
- lagen bei α_2PI 8 von 12 Mittelwerten im Normbereich. Das Konfidenzintervall des Mittelwertes überlappte in 4 Fällen (2 x Gruppe A, 1 x Gruppe B, 1 x Gruppe C) mit dem oberen Normbereich.

b) Vergleich der Patienten untereinander

Berechnet wurde der kleinste signifikante Unterschied zwischen den Mittelwerten der einzelnen Patienten ($p < 0,01$). Die Resultate der Berechnungen sind in den Abb. 20 - 23 veranschaulicht.

Auf der X-Achse unter "Person LEVEL NUMBER" sind die einzelnen Patienten mit den Nummern 1 - 12 kodiert. Patienten der Gruppe A sind den Nr. 1 - 4, der Gruppe B den Nr. 5 - 8, und der Gruppe C

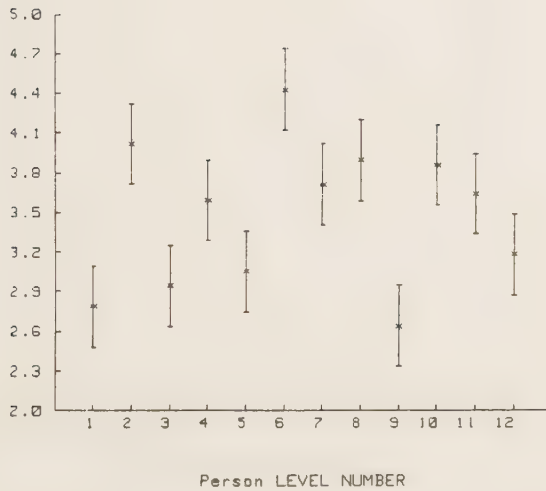
den Nr. 9 - 12 zugeordnet. Innerhalb jeder Patientengruppe wurde nach ansteigender Patientennummer sortiert. Beispiel: Patient A 59 = 1, A 60 = 2 usw.

Die Zahlen an der Y-Achse geben die Inhibitoraktivität in IU/ml an. Mit Kreuzen sind die jeweiligen Mittelwerte der einzelnen Patienten gekennzeichnet.

Die Balken um die Mittelwerte geben den bei p von $< 0,01$ geringst signifikanten Unterschied (= LSD-value) an. Bei Überlappung der Balken unterscheiden sich die jeweiligen Mittelwerte mit einer Wahrscheinlichkeit von $> 99\%$ nicht.

In der darunterstehenden Tabelle "Multiple Comparison on Person" werden Stichprobenumfang (Sample Size), Mittelwert (Mean), Patientennummer (Level, kodiert von 1 - 12 wie oben erklärt) und signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten (Separation) angegeben. Angeordnet ist die Tabelle nach ansteigenden Mittelwerten.

Bei Einordnung der Mittelwerte verschiedener Patienten unter dem gleichen Buchstaben der Rubrik "Separation" sind die Mittelwerte nicht signifikant unterschiedlich. Als Beispiel dient die Abb. 20, wobei Level 9, 1, 3, 5, 12 (d.h. Patienten C 40, A 59, A 63, B 46 und C 70) unter "Separation" mit dem Buchstaben a gekennzeichnet sind und sich daher im Mittelwert nicht signifikant unterscheiden. Hingegen sind "Level" 1 und 2 (Patienten A 59 und A 60) signifikant unterschiedlich, wie unter "Separation" mit a,d und e ausgewiesen wird.

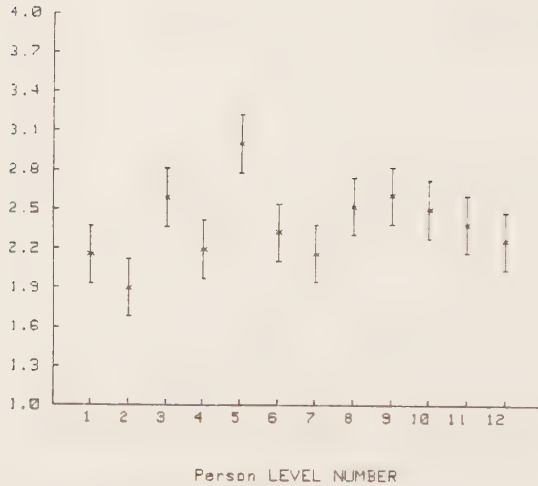


Least Significant Difference

Error mean square = .438195514922
 Degrees of freedom = 193
 Harmonic average sample size = 15.5262
 Alpha level = .01
 Table value from Student's t = 2.601
 LSD value = .612287571861

Level	Multiple Comparisons on Person		Separation
	Mean	Sample Size	
9	2.65	11	a
1	2.79	14	a
3	2.95	15	a
5	3.05	11	ab
12	3.18	25	abc
4	3.39	14	bcd
11	3.64	24	bcd
7	3.72	15	cd
10	3.86	23	de
8	3.90	25	de
2	4.02	11	de
6	4.43	17	e

Abb.20: α_2M , Berechnung des kleinsten signifikanten Unterschiedes zwischen den Mittelwerten der einzelnen Patienten Skalierung der Y-Achse in IU/ml; X-Achse: 1-4 = Gruppe A, 5-8 = Gruppe B, 9-12 = Gruppe C

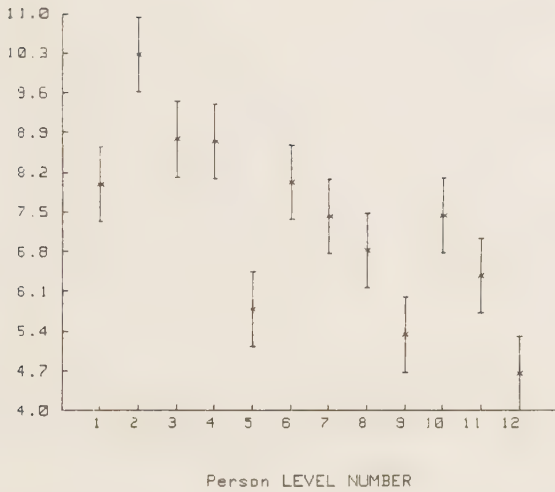


Least Significant Difference

Error mean square = .220014465078
 Degrees of freedom = 193
 Harmonic average sample size = 15.5262
 Alpha level = .01
 Table value from Student's t = 2.601
 LSD value = .437872955552

Level	Multiple Comparisons on Person		Separation
	Mean	Sample Size	
2	1.90	11	a
1	2.16	14	ab
7	2.16	15	abc
4	2.20	14	abc
12	2.25	25	abc
6	2.32	17	abc
11	2.38	24	bc
10	2.49	23	bc
8	2.52	25	bc
3	2.59	15	bcd
9	2.60	11	cd
5	3.00	11	d

Abb.21: α_1 PI, Berechnung des kleinsten signifikanten Unterschiedes zwischen den Mittelwerten der einzelnen Patienten
 Skalierung der Y-Achse in IU/ml; X-Achse: 1-4 = Gruppe A, 5-8 = Gruppe B, 9-12 = Gruppe C

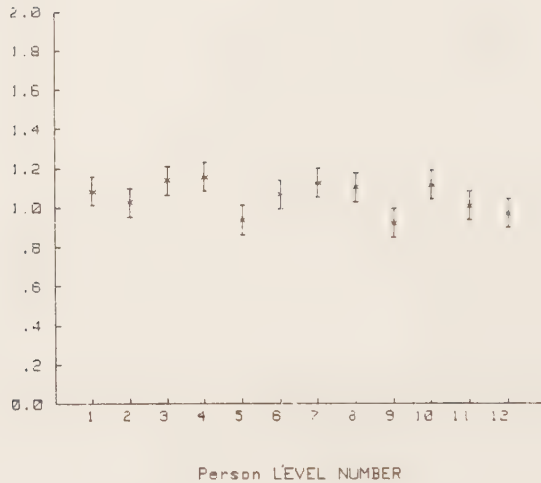


Least Significant Difference

Error mean square = 1.9975469199
 Degrees of freedom = 191
 Harmonic average sample size = 15.4534
 Alpha level = .01
 Table value from Student's t = 2.601
 LSD value = 1.32248911204

Level	Multiple Comparisons on Person		Separation
	Mean	Sample Size	
12	4.67	25	a
9	5.35	11	ab
5	5.80	11	abc
11	6.40	24	bcd
8	6.83	24	cde
7	7.44	15	de
10	7.46	22	def
1	7.99	14	efg
6	8.04	17	efg
4	8.76	14	fg
3	8.79	15	g
2	10.28	11	h

Abb.22: ATIII, Berechnung des kleinsten signifikanten Unterschiedes zwischen den Mittelwerten der einzelnen Patienten
 Skalierung der Y-Achse in IU/ml; X-Achse: 1-4 = Gruppe A, 5-8 = Gruppe B, 9-12 = Gruppe C



Least Significant Difference

Error mean square = 2.44838296198E-02
 Degrees of freedom = 192
 Harmonic average sample size = 15.4928
 Alpha level = .01
 Table value from Student's t = 2.601
 LSD value = .146227796534

Level	Multiple Comparisons on Person		Separation
	Mean	Sample Size	
9	.92	11	a
5	.94	11	ab
12	.97	25	abc
11	1.00	24	abcd
2	1.03	11	abcde
6	1.07	17	bcde
1	1.08	14	cde
8	1.10	24	cde
10	1.11	23	cde
7	1.12	15	de
3	1.14	15	de
4	1.16	14	e

Abb.23: α_2 PI, Berechnung des kleinsten signifikanten Unterschiedes zwischen den Mittelwerten der einzelnen Patienten
 Skalierung der Y-Achse in IU/ml; X-Achse: 1-4 = Gruppe A, 5-8 = Gruppe B, 9-12 = Gruppe C

Fazit:

- Die Vertrauensbereiche (LSD values) der patientenbezogenen Mittelwerte überlappten sowohl innerhalb der Gruppen A, B und C als auch zwischen den einzelnen Gruppen. Diese Aussage gilt für alle 4 Inhibitoren.
- wegen der beobachteten Überlappung kann aus den patientenbezogenen Mittelwerten kein Rückschluß auf die Gruppenzugehörigkeit gezogen werden.

6.2.2. DETAILLIERTE STATISTISCHE BETRACHTUNGEN

Im vorangegangenen Abschnitt wurde gezeigt, daß bei summarischer statistischer Analyse der Daten die Mittelwerte der Inhibitoraktivitäten des Gesamtkollektivs, der Patientengruppen oder der einzelnen Patienten entweder im Normbereich (α_2 PI) oder außerhalb (übrige Inhibitoren) lagen. Eine Aussage über Gruppenzugehörigkeit, basierend auf den jeweiligen Mittelwerten, konnte jedoch nicht getroffen werden.

Daher wurden in diesem Kapitel die Inhibitoraktivitäten verschiedener Phasen zusammengefaßt. Die einzelnen Phasen wurden folgendermaßen definiert:

- a) vor und nach der Operation
- b) Zeitraum vor Sepsisbeginn
- c) Sepsisbeginn und Verlauf
- d) Sepsisende bzw. Tod.

In den folgenden Kapiteln wurde untersucht:

- 1.) ob es innerhalb der einzelnen Phasen gruppenspezifische Unterscheidungen gab und
- 2.) ob sich die Inhibitoraktivitäten von Phase zu Phase unterschieden.

6.2.2.1. Inhibitoraktivitäten vor und nach der Operation

Den Berechnungen wurden die Datensätze KOM99 und KOM100 (für ATIII, α_2 PI und α_2 PI) und ALL 101 (für α_2 M) zugrundegelegt.

a) Vergleiche der Werte vor und nach Operation ohne

Normierung (auf Basis IU/ml).

Untersucht wurde am Gesamtkollektiv ob:

- 1.) die Mittelwerte vor und nach der Operation im Normbereich lagen und
- 2.) die Mittelwerte nach der Operation signifikant verschieden zu denen vor der Operation waren.

Die Resultate zu Frage 1) sind in den Tabellen 11 und 12 aufgeführt.

Inhibitor	α_2M	α_1PI	ATIII	α_2PI
Normbereich	3,9-8,1	1,4-2,1	10-15	0,8-1,2
n	22	8	8	8
x	4,99	1,95	10,07	1,07
SD	1,58	0,49	1,49	0,15
99%	4,04-	1,35-	8,23-	0,87-
Konf x	5,95	2,55	11,91	1,26

Tabelle 11: Mittelwerte vor der Operation (Angaben in IU/ml)

Inhibitor	α_2M	α_1PI	ATIII	α_2PI
Normbereich	3,9- 8,1	1,4-2,1	10-15	0,8-1,2
n	22	8	8	8
x	3,79	1,44	7,67	0,86
SD	0,83	0,25	1,62	0,09
99%	3,28-	1,13-	5,66-	0,75-
Konf x	4,29	1,74	9,67	0,96

Tabelle 12: Mittelwerte nach der Operation (Angaben in IU/ml)

Bei Vergleich der Mittelwerte von 8 Stunden vor zu 8 Stunden nach der Operation ergaben sich mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % hochsignifikante Unterschiede.

Fazit:

Bei Mittlung über alle Patienten:

- lagen die Inhibitoraktivitäten vor der Operation im Normbereich,
- waren 8 Stunden danach die Aktivitäten bei allen Inhibitoren signifikant abgesunken,
- lagen die Mittelwerte nach der Operation bei α_2M und ATIII tiefer als der Normbereich, während die von α_2PI und α_2PI von unterhalb der Norm bis in den Normbereich reichten.

**b) Vergleiche der Werte vor und nach der Operation bei
Normierung**

Die Schwankungsbreite der Inhibitoraktivitäten vor der Operation war beträchtlich, z. B. betrug sie für α_2M 2,81 - 8,68 IU/ml. Die Aktivitäten vor der Operation wurden daher auf 100 % normiert und alle folgenden Daten darauf bezogen.

Geprüft wurde ob:

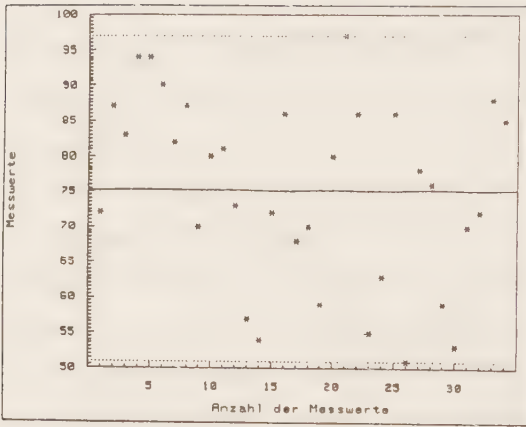
1. die für das Gesamtkollektiv getroffene Aussage für jeden einzelnen Patienten gilt und
2. zwischen den Gruppen A, B und C Unterschiede bestehen (nur für α_2M)

Zur Beantwortung der ersten Frage wurde α_2M mit dem optischen Test (manuelle Durchführung) und der radialen Immundiffusion von zusätzlichen Patienten bestimmt. Diese Daten sind im Datensatz ALL 101 nur teilweise enthalten.

Abb. 24 demonstriert, daß die α_2 M-Aktivität, gemessen mit dem photometrischen Test ca. 8 Stunden nach der Operation, im Median 23 % geringer als vor der Operation war. Die Verminderung der Inhibitoraktivität war von Patient zu Patient recht verschieden, der Bereich erstreckte sich von - 3 bis -50 % des Wertes vor der Operation. In keinem Falle wurden nach dem chirurgischen Eingriff erhöhte Werte gemessen.

Daß nicht nur die α_2 M-Aktivität sondern auch die α_2 M Konzentration abnahm zeigt Abb. 25. Aufgetragen ist die immunologisch bestimmte Konzentration (Y-Achse), gegen die Resultate des funktionellen Tests (X-Achse), jeweils in % des Wertes vor der Operation. Zu beobachten ist, daß die Abnahme der α_2 M-Konzentration im Mittel weniger ausgeprägt war, als die der α_2 M-Aktivität. Dieser Befund spricht dafür, daß der immunologische Test im Gegensatz zum funktionellen Test z.T. auch inaktive α_2 M-Proteasekomplexe erfaßt.

Auch die anderen 3 Inhibitoren waren in der Aktivität abgesunken (s. Abb. 26). ATIII nahm bei 7 Patienten im Mittel um 24 % (Streuung 5-50 %), α_2 PI bei 8 Patienten ebenfalls um 24 % (Streuung 5-50 %) und α_2 PI bei 8 Patienten um ca. 20 % (Streuung 3-45 %) ab.



N = 34; $MW \pm S = 75.235 \pm 26.040$; S = 13.020; VK = 17.31%; Med. = 77.000

Abb.24: α_2 M Aktivitäten nach der Operation (ca.8 Stunden) bei Normierung (Wert vor der Operation = 100%)

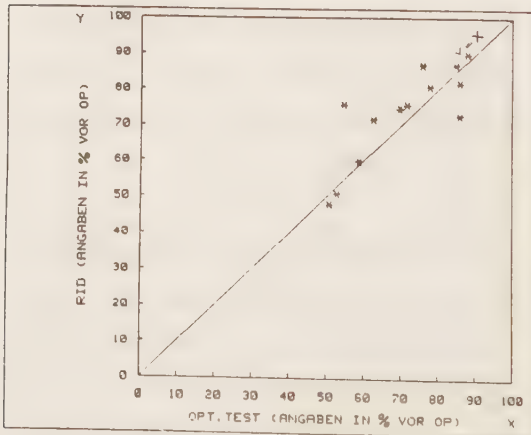
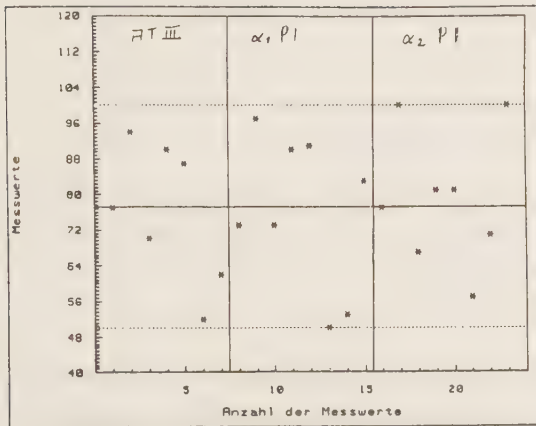


Abb.25: α_2 M; aufgetragen ist immunologisch bestimmte Konzentration (in % des Wertes vor der Operation, Y-Achse) gegen die Resultate des funktionellen Tests (in % des Wertes vor der Operation, X-Achse)



AT III: $N = 7$; $MW \pm 2S = 76.000 \pm 31.091$; $S = 15.546$; $VK = 20.45\%$; $Med. = 77.000$

$\alpha_1 PI$: $N = 8$; $MW \pm 2S = 76.250 \pm 34.916$; $S = 17.458$; $VK = 22.90\%$; $Med. = 78.000$

$\alpha_2 PI$: $N = 8$; $MW \pm 2S = 79.250 \pm 30.100$; $S = 15.050$; $VK = 18.99\%$; $Med. = 79.000$

Abb.26: Gemessene Aktivitäten in % von ATIII, $\alpha_1 PI$ und $\alpha_2 PI$

ca. 8 Stunden nach der Operation; Ordinate: Meßwerte (100% = Wert vor der Operation); Abszisse: Anzahl der Meßwerte

Zur Beantwortung der Frage, ob nach Normierung bei den Werten nach der Operation Unterschiede in den Mittelwerten der Gruppen A, B und C festzustellen sind, wurde der Datensatz ALL 101 herangezogen. Die Ergebnisse der Berechnungen sind in Tabelle 13 zu sehen.

	Gruppe A	Gruppe B	Gruppe C
n	9	5	9
x (%)	84,3	69,0	78,0
SD	9,4	16,3	43,6

Tabelle 13: Mittelwerte von α_2M in den Gruppen A, B und C
nach der Operation (Werte vor der Operation
auf 100 % normiert)

Die Mittelwerte der Gruppen A, B und C unterschieden sich mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % nicht voneinander.

Fazit:

- Nach dem chirurgischen Eingriff nahmen die Aktivitäten von α_2M , α_1PI , ATIII und α_2PI , gemittelt über die Gruppen A, B und C, im Durchschnitt 15 - 30 % im Vergleich zum präoperativen Wert ab.
- Höhere Werte als vor der Operation wurden in keinem Fall beobachtet.
- Von Patient zu Patient schwankten die Abnahmen von 3-50%, dies galt für alle 4 Inhibitoren.
- Für α_2M wurde nachgewiesen, daß die Abnahme der Inhibitoraktivität mit einer Abnahme der Inhibitorkonzentration einhergeht.
- Die prozentuale Verminderung der α_2M - Inhibitoraktivität unterschied sich in den Gruppen A, B und C nicht signifikant.
- Bei den Inhibitoren ATIII, α_2PI und α_2PI wurde keine gruppenweise Aufteilung vorgenommen, da der geringe Stichprobenumfang (4 Fälle in Gruppe A, je 2 Fälle in Gruppe B und C) eine statistisch verifizierbare Aussage nicht zuließ.

6.2.2.2. INHIBITORAKTIVITÄTEN VOR SEPSISBEGINN

Bei der Betrachtung dieser post-operativen Phase wurden die Werte vor und nach der Operation, ab Sepsisbeginn, sowie bei Entlassung oder Tod nicht berücksichtigt. Wegen des geringen Stichprobenumfanges in Gruppe B (α_2M : $n=9$, ATIII, α_2PI , α_2PI : $n=8$) wurden die Gruppen B und C zusammengefaßt.

Betrachtet wurden die Mittelwerte der Gruppe A bzw. die der Gruppen B und C aus dieser Phase im Vergleich:

- a.) zu den Normbereichen und
- b,c.) untereinander

a.) Vergleiche zu den Normbereichen

Die statistischen Berechnungen wurden wie unter Punkt 6.2.1. beschrieben, durchgeführt. Gearbeitet wurde mit den Datensätzen KOMPL (ATIII, α_2PI und α_2PI) und ALL 1 (α_2M). Die Ergebnisse sind in der Tabelle 14 zusammengestellt.

Fazit:

Mit einer Wahrscheinlichkeit von $> 99\%$ lag der Mittelwert der Kontrollgruppe und der Gruppen B + C vor Sepsis

- bei α_2M und ATIII unter dem Normbereich,
- bei α_2PI im oberen Normbereich und darüber,
- bei α_2PI im Normbereich.

Inhibitor		Kontrolle	Gruppen B + C
α_2^M	n	88	58
	x	3,20	3,50
	SD	0,67	0,50
	99% Konf.x	3,02-3,39	3,32-3,67
α_1^{PI}	n	42	50
	x	2,35	2,26
	SD	0,37	0,43
	99% Konf.x	2,20-2,51	2,10-2,42
ATIII	n	42	49
	x	8,69	6,70
	SD	1,31	1,44
	99% Konf.x	8,14-9,23	6,14-7,25
α_2^{PI}	n	42	50
	x	1,15	1,08
	SD	0,13	0,15
	99% Konf.x	1,10-1,21	1,03-1,14

Tabelle 14: Inhibitoraktivitäten vor Sepsis (Angaben in IU/ml)

b.) Vergleiche der Mittelwerte der Gruppe A mit der Gruppe B + C

Wie in Kapitel 6.2.1. wurden die Mittelwerte der einzelnen Gruppen auf signifikante Unterschiede geprüft. Die Ergebnisse der Berechnungen sind in den Abb. 27 - 30 veranschaulicht. Die Mittelwerte der Kontrollgruppe sind unter LEVEL NUMBER mit 1, die

der Gruppe B + C mit 2 bezeichnet. Bei Einordnung unter dem gleichen Buchstaben besteht mit einer Wahrscheinlichkeit von > 99 % kein signifikanter Unterschied.

Da es sich um das gleiche Datenmaterial wie im vorhergehenden Abschnitt handelte, können Stichprobenumfang, Mittelwerte und Standardabweichung der Tabelle 14 entnommen werden.

Fazit:

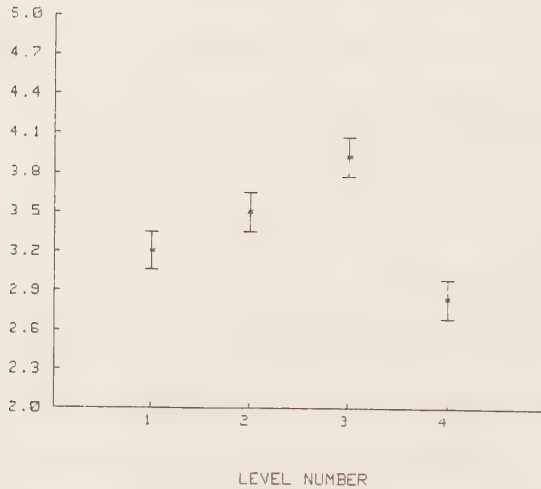
Vor Beginn der Sepsis:

- gab es hinsichtlich der Parameter α_2M , α_1PI und α_2PI keine signifikanten Unterschiede zwischen der Gruppe A einerseits und der Gruppe B + C andererseits,
- war die Inhibitoraktivität in der Kontrollgruppe A beim Parameter ATIII im Mittel signifikant höher als der Gruppe B + C.

c.) Vergleiche der Mittelwerte der Gruppen A sowie B + C auf signifikante Unterschiede nach Normierung auf die Werte vor der Operation.

Zur Auswertung wurden die Datensätze All 101 und KOM 100 benutzt. Diese Datensätze enthielten im Gegensatz zu den vorher verwendeten Datensätzen KOMPL und All 1 weniger Patienten (d.h. nur die Patienten, bei denen ein Wert vor der Operation vorlag). Daher wurde zunächst untersucht, ob mit dem Datensatz KOM 99 (Patienten 46 und 72 der Gruppe B und Patienten 40 und 70 der Gruppe C des Datensatzes KOMPL sind hier nicht enthalten) die gleichen Ergebnisse wie vorher erhalten wurden.

MULTIPLE COMPARISON PLOT : LSD



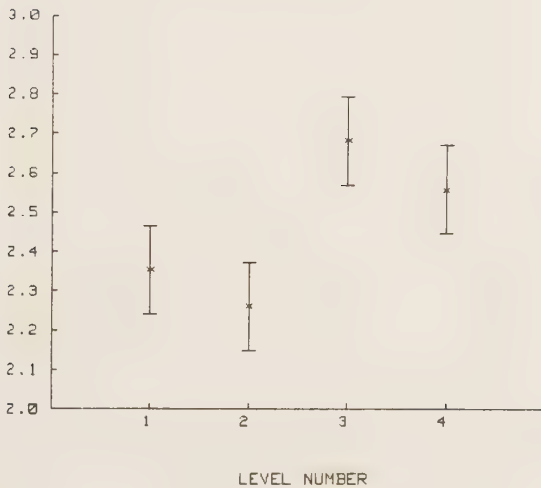
Least Significant Difference

Error mean square = .604324949868
 Degrees of freedom = 304
 Harmonic average sample size = 75.0467
 Alpha level = .99
 Tab e value from Student's t = 2.33
 LSD value = .295692528334

Level	Multiple Comparisons on		Separation
	Mean	Sample Size	
4	2.837	80	a
1	3.206	88	b
2	3.499	58	b
3	3.916	82	c

Abb. 27: α_2M , multiple Vergleiche zur Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Gruppen; Y-Achse: in IU/ml skaliert; X-Achse: 1= Gruppe A vor Sepsisbeginn, 2= Gruppe B+C vor Sepsisbeginn, 3= Gruppe B während Sepsis, 4= Gruppe C während Sepsis

MULTIPLE COMPARISON PLOT : LSD



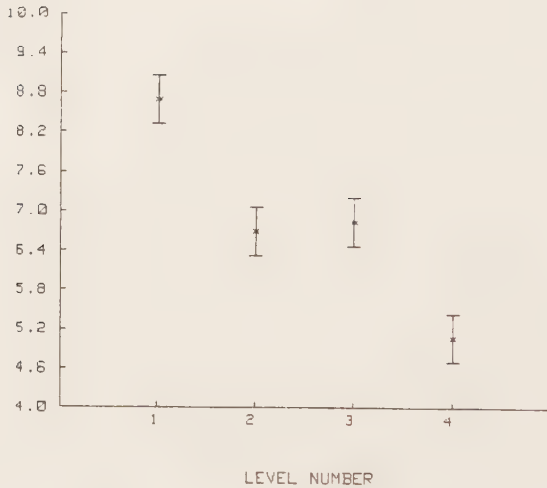
Least Significant Difference

Error mean square = .194199499826
 Degrees of freedom = 172
 Harmonic average sample size = 42.6801
 Alpha level = .99
 Tab e value from Student's t = 2.35
 LSD value = .224178510012

Level	Multiple Comparisons on		Separation
	Mean	Sample Size	
2	2.262	50	a
1	2.355	42	ab
4	2.562	33	bc
3	2.685	51	c

Abb. 28: α_1 PI, multiple Vergleiche zur Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Gruppen; Y-Achse: in IU/ml skaliert; X-Achse: 1= Gruppe A vor Sepsisbeginn, 2= Gruppe B+C vor Sepsisbeginn, 3= Gruppe B während Sepsis, 4= Gruppe C während Sepsis

MULTIPLE COMPARISON PLOT : LSD



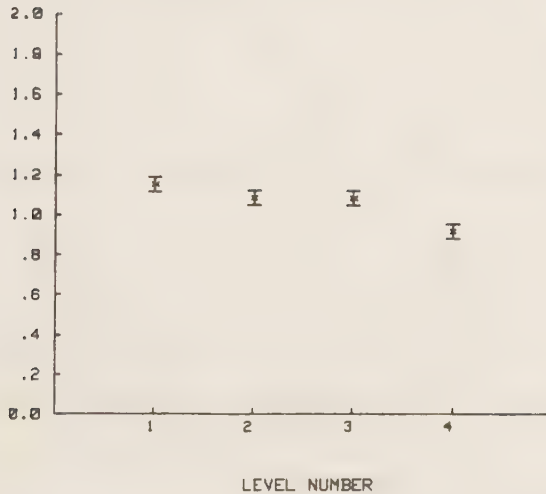
Least Significant Difference

Error mean square = 2.00846206194
 Degrees of freedom = 170
 Harmonic average sample size = 42.3168
 Alpha level = .99
 Table value from Student's t = 2.4
 LSD value = .737946552562

Level	Multiple Comparisons on		Separation
	Mean	Sample Size	
4	5.068	33	a
2	6.696	49	b
3	6.827	50	b
1	8.686	42	c

Abb. 29: ATIII, multiple Vergleiche zur Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Gruppen; Y-Achse: in IU/ml skaliert; X-Achse: 1= Gruppe A vor Sepsisbeginn, 2= Gruppe B+C vor Sepsisbeginn, 3= Gruppe B während Sepsis, 4= Gruppe C während Sepsis

MULTIPLE COMPARISON PLOT : LSD



Least Significant Difference

Error mean square = 2.02932701988E-02
 Degrees of freedom = 171
 Harmonic average sample size = 42.5023
 Alpha level = .99
 Table value, from Student's t = 2.35
 LSD value = 7.26104311679E-02

Level	Mean	Sample Size	Separation
4	.924	33	a
2	1.086	50	b
3	1.086	50	b
1	1.152	42	b

Abb. 30: α_2 PI, multiple Vergleiche zur Überprüfung auf signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Gruppen; Y-Achse: in IU/ml skaliert; X-Achse: 1= Gruppe A vor Sepsisbeginn, 2= Gruppe B+C vor Sepsisbeginn, 3= Gruppe B während Sepsis, 4= Gruppe C während Sepsis

Als Resultat ergab sich, daß auch mit vermindertem Stichprobenumfang die vorher getroffenen Aussagen galten:

- Zwischen der Kontrollgruppe A und den vereinigten Daten der Gruppen B und C waren die jeweiligen Mittelwerte vor Sepsisbeginn für α_2M , α_1PI und α_2PI nicht signifikant unterschiedlich ($p < 0,01$))
- Die ATIII-Aktivität zeigte in der die Kontrollgruppe signifikant höhere Werte als in der Gruppe B+C ($p < 0,001$).

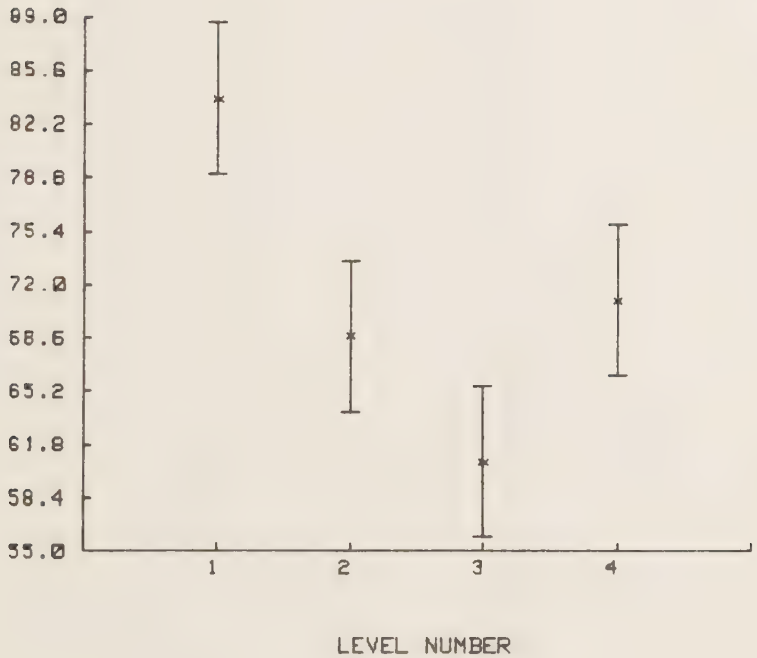
Da mit den Datensätzen KOMPL und KOM 99 sowie ALL 1 und ALL 101 die gleiche Einordnung erhalten wurde, konnten die normierten Daten analysiert werden. Auch hier wurden die Daten der Patienten der Gruppe B + C zusammengefaßt. Die Ergebnisse sind in den Abb. 31 - 34 dargestellt, die Zuordnung und Abkürzungen entsprechen dem der Abb. 27 - 30 .

Fazit:

Nach Normierung auf den präoperativen Wert ergaben sich zwischen der Kontrollgruppe A einerseits und der Gruppe B + C andererseits im Mittel während der Phase vor Sepsis:

- bei α_2M und α_1PI signifikante Unterschiede, wobei die Inhibitoraktivitäten für $A > B+C$ waren ($p < 0,01$)
- bei ATIII und α_2PI keine statistisch verifizierbaren Unterschiede ($p < 0,01$)

Dies bedeutet, daß sich durch die Normierung die Aussagen für die Parameter α_2M , ATIII und α_1PI geändert hatten, während sie für den Parameter α_2PI bestehen blieben.

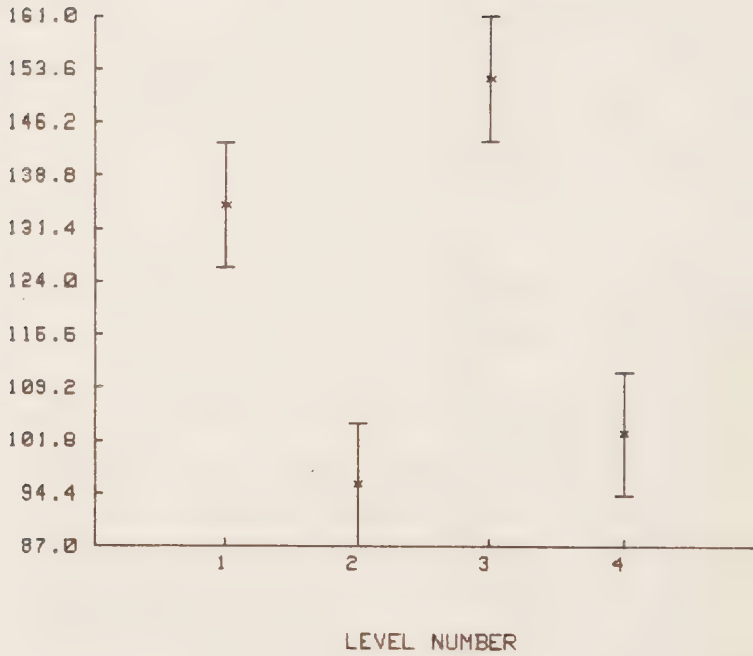


Least Significant Difference

Error mean square = 190.228275018
 Degrees of freedom = 114
 Harmonic average sample size = 22.6922
 Alpha level = .99
 Table value from Student's t = 2.36
 LSD value = 9.66330681356

Level	Mean	Sample Size	Separation
3	60.705	32	a
2	68.774	33	ab
4	71.045	11	b
1	83.875	42	c

Abb.31: α_2M : wie Abb. 27; abweichend davon wurden alle Werte auf die Inhibitoraktivität vor der Operation (= 100%) normiert

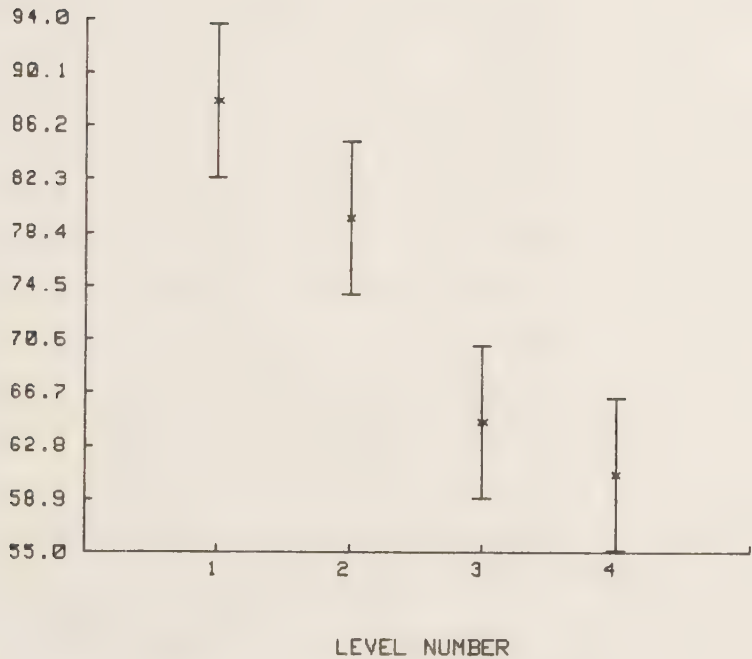


Least Significant Difference

Error mean square = 604.872322895
 Degrees of freedom = 114
 Harmonic average sample size = 22.6922
 Alpha level = .99
 Table value from Student's t = 2.36
 LSD value = 17.2313812075

Level	Multiple Comparisons on Mean	Sample Size	Separation
2	95.666	33	a
4	102.726	11	a
1	134.613	42	b
3	151.956	32	c

Abb.32: α_1 PI: wie Abb. 28; abweichend davon wurden alle Werte auf die Inhibitoraktivität vor der Operation (= 100%) normiert

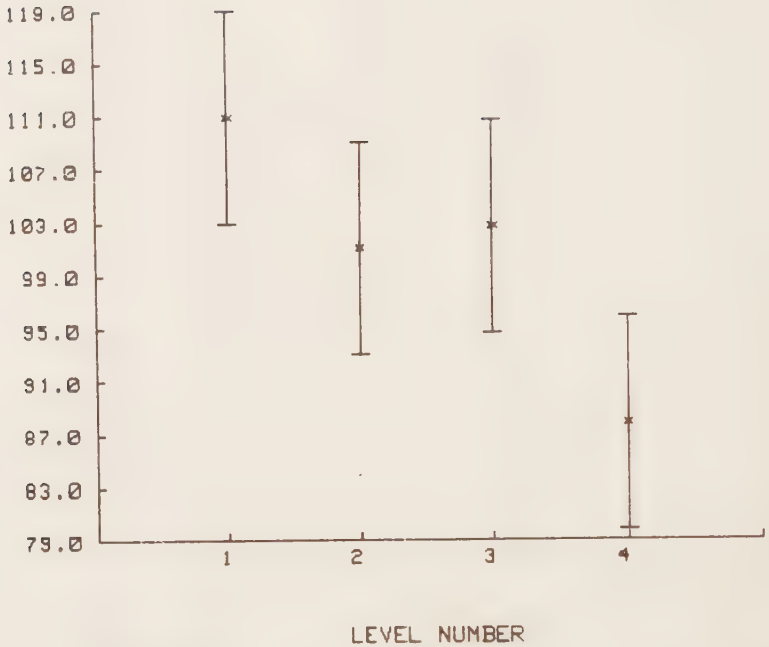


Least Significant Difference

Error mean square = 252.670443732
 Degrees of freedom = 112
 Harmonic average sample size = 22.4453
 Alpha level = .99
 Table value from Student's t = 2.36
 LSD value = 11.1985188226

Level	Multiple Comparisons on		Separation
	Mean	Sample Size	
4	60.797	11	a
3	64.582	31	a
2	79.591	32	b
1	88.065	42	b

Abb.33: ATIII: wie Abb. 29; abweichend davon wurden alle Werte auf die Inhibitoraktivität vor der Operation (= 100%) normiert



Least Significant Difference

Error mean square = 290.76413823
 Degrees of freedom = 113
 Harmonic average sample size = 22.5632
 Alpha level = .999
 Table value from Student's t = 3.15
 LSD value = 15.9917316071

Level	Multiple Comparisons on		Separation
	Mean	Sample Size	
4	87.825	11	a
2	101.086	33	ab
3	102.602	31	ab
1	110.944	42	b

Abb.34: α_2 PI: wie Abb. 30; abweichend davon wurden alle Werte auf die Inhibitoraktivität vor der Operation (= 100%) normiert

6.2.2.3. INHIBITORAKTIVITÄTEN WÄHREND DES SEPSISVERLAUFES

Weggelassen wurden bei allen Gruppen die Daten vor und nach der Operation, bei Entlassung bzw. Tod, sowie bei den Gruppen B und C alle Werte vor Sepsisbeginn. Verglichen wurde zu der Kontrollgruppe A. Die Vorgehensweise war wie in Kapitel 6.2.2.2., ebenso wurden die Datensätze KOMPL und ALL 1 verwendet.

a.) Vergleiche zu den Normbereichen

Die Tabelle 15 zeigt die Resultate der statistischen Berechnungen

Fazit:

Die Mittelwerte der Gruppen B und C während des Sepsisverlaufes lagen mit einer Wahrscheinlichkeit von $> 99\%$:

- bei α_2M teils im unteren Normbereich (Gruppe B), teils darunter (Gruppe C),
- bei α_1PI über dem Normbereich,
- bei ATI unter dem Normbereich,
- bei α_2PI im Normbereich.

Die gleiche Aussage gilt für die Kontrollgruppe. Das bedeutet, daß sich die Mittelwerte der Kontrollgruppe einerseits und die der Gruppen B und C andererseits während der Sepsis hinsichtlich Einordnung zum Normbereich identisch verhielten.

Inhibitor		Kontrolle	Gruppe B	Gruppe C
α_2 M	n	88	82	80
	x	3,20	3,91	2,84
	SD	0,67	1,01	0,78
	99% Konf.x	3,02-3,39	3,62-4,21	2,61-3,07
α_1 PI	n	42	51	33
	x	2,35	2,68	2,56
	SD	0,37	0,53	0,39
	99% Konf.x	2,20-2,51	2,49-2,88	2,37-2,75
ATIII	n	42	50	33
	x	8,69	6,83	5,07
	SD	1,31	1,45	1,45
	99% Konf.x	8,14-9,23	6,27-7,38	4,37-5,76
α_2 PI	n	42	50	33
	x	1,15	1,09	0,92
	SD	0,13	0,13	0,15
	99% Konf.x	1,10-1,21	1,04-1,14	0,85-0,99

Tabelle 15: Inhibitoraktivitäten während Sepsis

b.) Vergleiche der Mittelwerte der Gruppen B und C während Sepsis untereinander und zur Kontrollgruppe.

Geprüft wurde auf signifikante Unterschiede der Mittelwerte.

Eine Zusammenfassung ist in den Abb. 27 - 30 gegeben (s.S.82-85)

Unter LEVEL NUMBER wird die Kontrollgruppe A mit 1, die Gruppe B während Sepsis mit 3 und die Gruppe C während Sepsis mit 4 gekennzeichnet.

Fazit:

Die Mittelwerte während des Sepsisverlaufes unterschieden sich mit einer Wahrscheinlichkeit von $> 99 \%$:

- bei Parameter α_2M , wobei Gruppe B signifikant höher als die Kontrollgruppe und diese wiederum über der Gruppe C lag,
- bei ATIII, wobei der Mittelwert der Kontrollgruppe höher als bei Gruppe B war, der wiederum höher als bei Gruppe C lag,
- bei α_2PI zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe C nicht. Ebenso wurde kein Unterschied zwischen Gruppen B und C gefunden, während die Kontrollgruppe signifikant niedriger als Gruppe B lag,
- bei α_2PI , wobei der Mittelwert der Gruppe C signifikant tiefer als der der Kontrollgruppe und der der Gruppe B war. Zwischen Kontrollgruppe und der Gruppe B bestand kein Unterschied.

c.) Vergleich der Mittelwerte der Gruppen B und C während Sepsis zu der Phase vor Sepsis.

Die Ergebnisse der Berechnungen sind in den Abb. 27-30 (s.S. 82-85) veranschaulicht.

Unter LEVEL NUMBER ist die Kontrollgruppe mit 1, Gruppen B + C vor Sepsis mit 2, Gruppe B während Sepsis mit 3 und Gruppe C während Sepsis mit 4 gekennzeichnet.

Fazit:

- α_2 M: während der Sepsis waren die Werte in Gruppe B höher und in Gruppe C lagen sie tiefer als vor der Sepsis
- α_1 PI: Bei Gruppe B und C wurden während der Sepsis höhere Werte als als vor der Sepsis gemessen
- ATIII: In der Gruppe B unterschieden sich die Werte während der Sepsis nicht von denen vor der Sepsis;
bei Gruppe C lagen sie während Sepsis tiefer als vor der Sepsis
- α_2 PI: Bei Gruppe B waren die Werte während der Sepsis und vor der Sepsis gleich;
bei der Gruppe C lagen sie während der Sepsis tiefer als vor der Sepsis.

d.) Vergleich der Inhibitoraktivitäten nach Normierung auf den Wert vor der Operation.

In den Abb. 31-34 (s.S.87-90) sind die Ergebnisse dargestellt. Die Zuordnung der Gruppen unter LEVEL NUMBER wurde wie vorher gewählt.

Fazit:

a: Vor Sepsisbeginn:

- Für α_2 M und α_1 PI lagen die Inhibitoraktivitäten in der Kontrollgruppe A höher als in den Gruppen B + C
- Für ATIII und α_2 PI ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe A und den Gruppen B + C ($p < 0,01$).

b: Während Sepsis:

- Für α_2 M lagen die Werte in der Gruppe B niedriger als in Gruppe C

- Für α_1 PI wurden in Gruppe B höhere Aktivitäten als in Gruppe C ermittelt
- Bei ATIII und α_2 PI ergaben sich keine Gruppenunterschiede.

Wie schon vorher beobachtet, wurden durch Normierung auf die Inhibitoraktivitäten vor der Operation gänzlich andere Aussagen erhalten als ohne Normierung.

6.2.2.4. INHIBITORAKTIVITÄTEN BEI ENTLASSUNG, SEPSISENDE ODER TOD

Verwendet wurde der Datensatz KOMPL und ALL 1. Verglichen wurden 2 Gruppen, nämlich die Inhibitoraktivitäten bei Entlassung und Sepsisende mit denen kurz vor Eintritt des Todes. Es wurden die gleichen statistischen Berechnungen wie vorher durchgeführt. In Tabelle 16 sind die Resultate zusammengefaßt.

Fazit:

Wegen des geringen Stichprobenumfangs bei "Tod" sind die Aussagen für diese Gruppe mit einer gewissen Unschärfe behaftet, daher entfallen hier auch die Angaben des 99 %-Konfidenzintervalls für den Mittelwert. Es lassen sich jedoch folgende Tendenzen ableiten:

- Die Werte für α_2 M, α_1 PI und α_2 PI bewegten sich bei beiden Gruppen im Normbereich bzw. geringfügig darunter.
- Ein drastischer Unterschied wurde für ATIII gesehen:

Die Werte lagen vor Eintritt des Todes weit unter dem Normbereich während sie bei den anderen Gruppen (Entlassung bzw Sepsisende) bereits wieder die Norm erreichten.

Inhibitor		1	2
α_2 M	n	19	8
	x	4,29	3,26
	SD	1,10	1,35
	99% Konf.x	3,08-5,56	1,85-4,72
α_1 PI	n	9	3
	x	2,14	2,21
	SD	0,37	0,16
	99% Konf.x	1,73-2,55	-
ATIII	n	9	3
	x	9,71	4,37
	SD	1.46	2,23
	99% Konf.x	9,07-11,35	-
α_2 PI	n	9	3
	x	0.99	0,86
	SD	0,24	0,09
	99% Konf.x	0,71-1,26	-

Tabelle 16: Inhibitoraktivitäten bei Entlassung bzw. Sepsisende (1) und Tod (2), Angaben in IU/ml

6.3. INHIBITORAKTIVITÄTEN IM ZEITLICHEN VERLAUF

Bei den vorausgegangenen statistischen Untersuchungen wurde immer über eine Variable, nämlich den zeitlichen Verlauf der Inhibitoraktivitäten, gemittelt. Im vorliegenden Kapitel wurde nun versucht, Unterschiede im zeitlichen Verlauf der 4 Inhibitoraktivitäten bei jedem Patienten zu finden. Untergliedert wurde der Verlauf in:

- a) eine postoperative Phase
- b) die Phase um den Sepsisbeginn und
- c) die Phase während der Sepsis

Trends in den einzelnen Phasen wurden subjektiv festgestellt (Mittlung über Meßpunkte per Auge). Anschließend wurde gefragt, ob ähnliche Trends bei allen Patienten gesehen wurden (jeweils einzeln für jeden Inhibitor).

6.3.1. α_2M

Die zeitlichen Verläufe der Inhibitoraktivitäten von Gruppe A sind in den Abb. 35 - 38, von Gruppe B in den Abb. 39 - 42 und von Gruppe C in den Abb. 43 - 46 wiedergegeben. Für diese und alle sich anschließenden Darstellungen gelten folgende Abkürzungen:

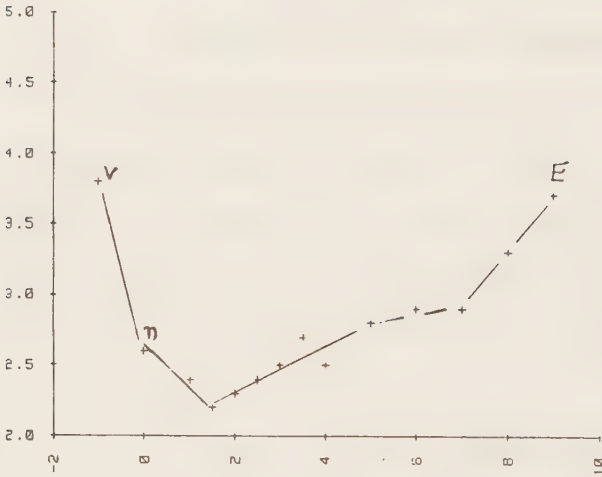


Abb. 35: α_2 M, Patient Nr. 59 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

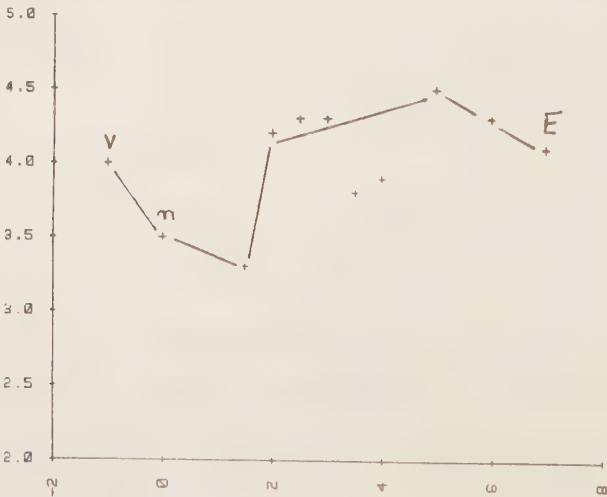


Abb. 36: α_2 M, Patient Nr. 60 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

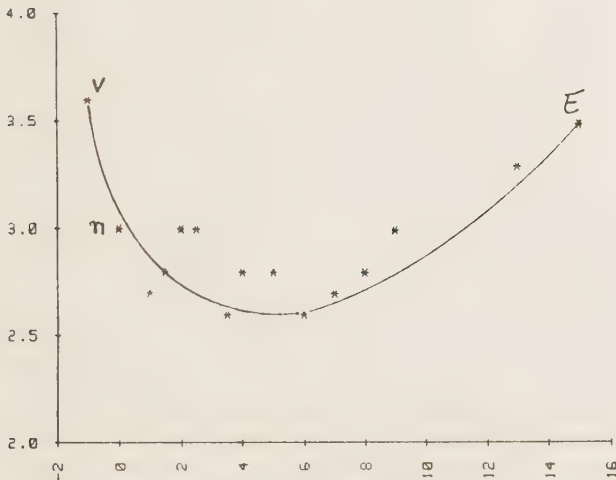


Abb. 37: α_2 M, Patient Nr. 63 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

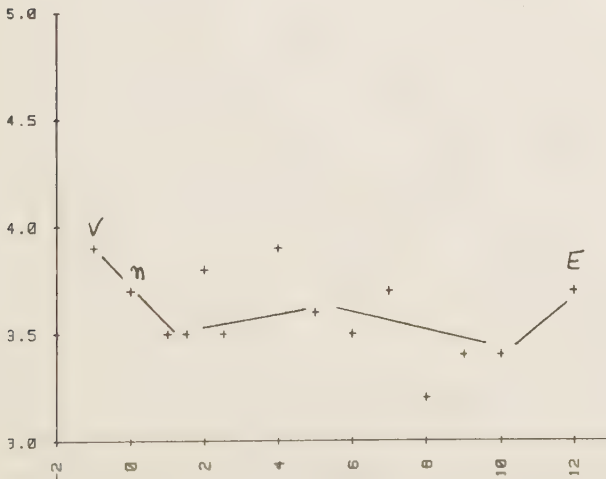


Abb. 38: α_2 M, Patient Nr. 65 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

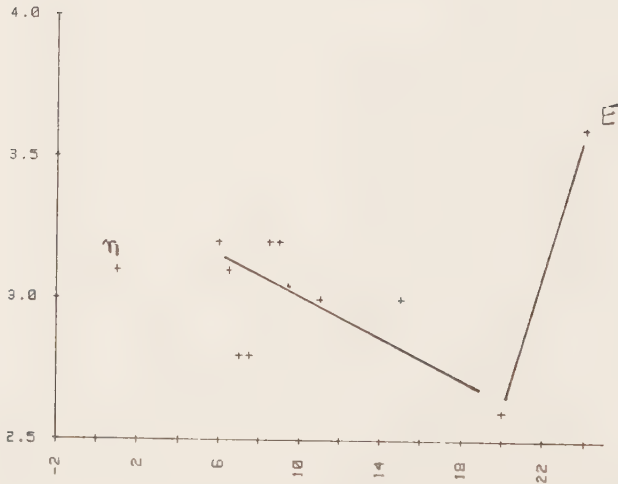


Abb. 39: α_2 M, Patient Nr. 46 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

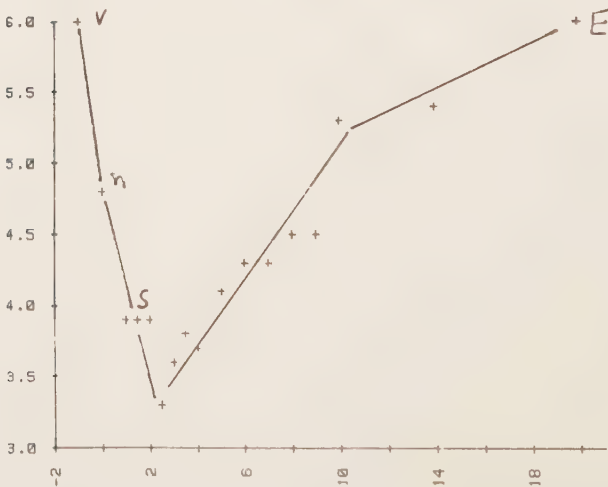


Abb. 40: α_2 M, Patient Nr. 62 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

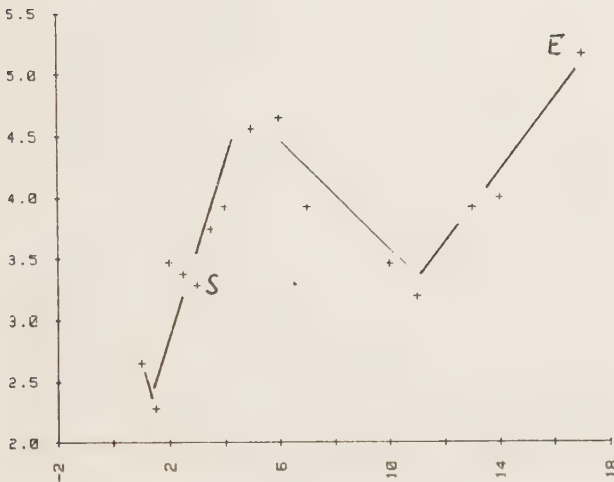


Abb. 41: α_2M , Patient Nr. 72 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

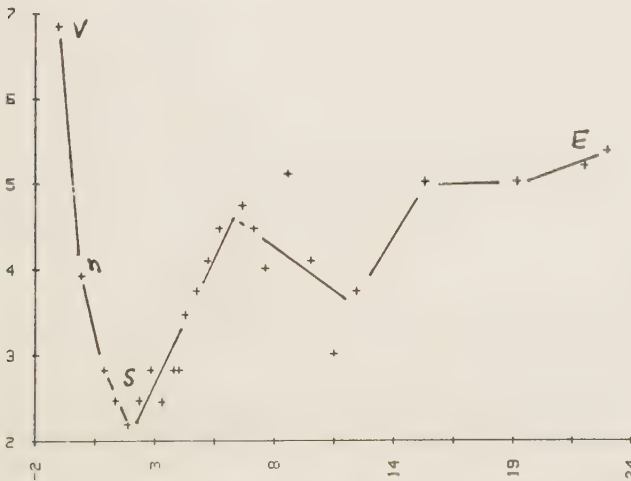


Abb. 42: α_2M , Patient Nr. 92 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

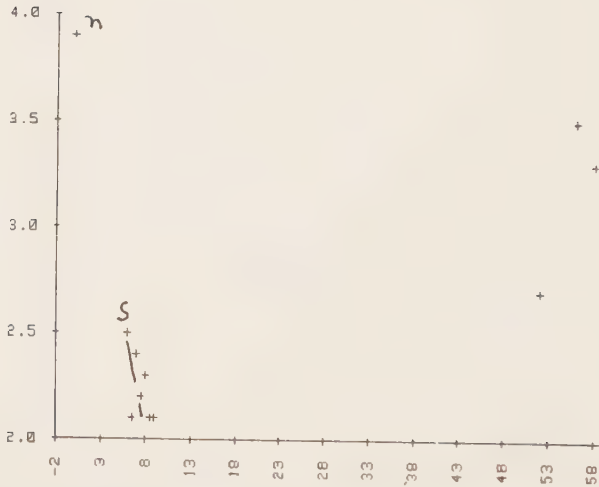


Abb. 43: α_2M , Patient Nr. 40 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

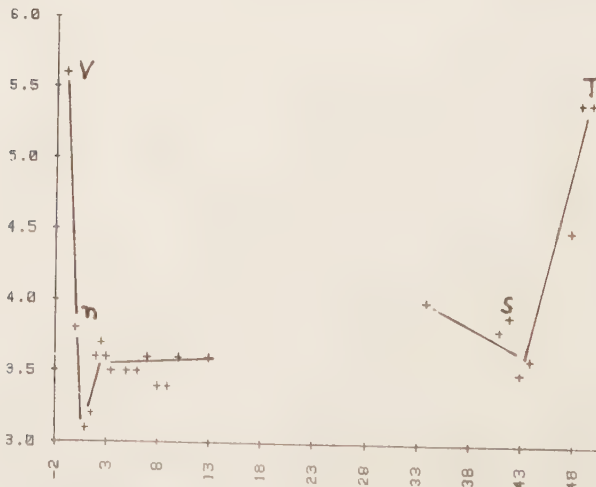


Abb. 44: α_2M , Patient Nr. 64 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

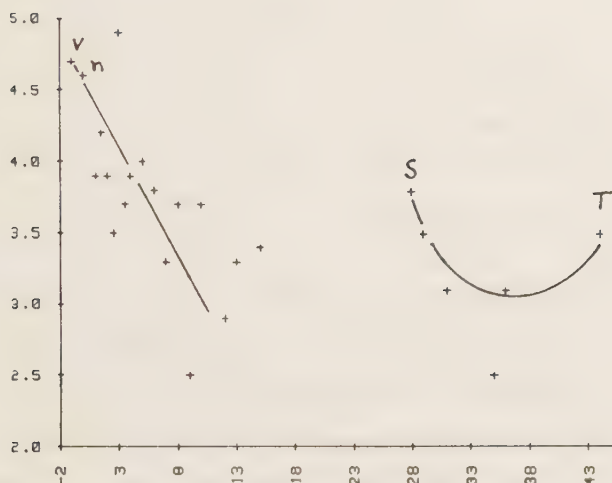


Abb. 45: α_2 M, Patient Nr. 66 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

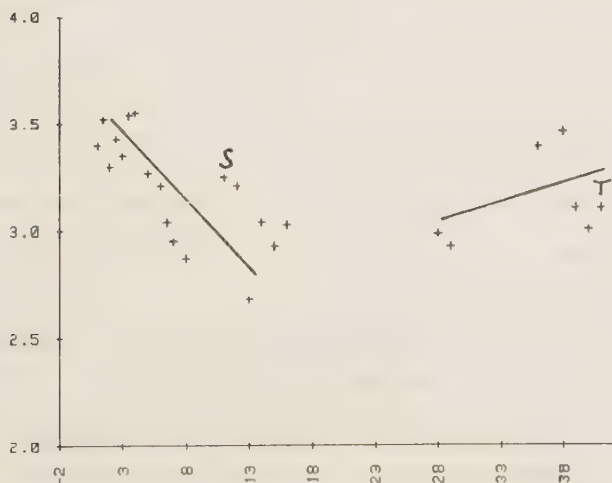


Abb. 46: α_2 M, Patient Nr. 70 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

v = vor der Operation

n = nach der Operation

S = Sepsisbeginn

E = Sepsisende bzw. Entlassung

T = Tod

Nach dem chirurgischen Eingriff fielen bei allen Patienten für 1-3 Tage die α_2 M-Aktivitäten stetig ab. Im Minimum lagen alle Werte unter dem Normbereich. Danach stiegen sie mehr oder weniger schnell wieder bis zum Normbereich an. Dies galt für alle 3 Gruppen. Die untere Grenze des Normbereiches wurde in den Gruppen A und B im postoperativen Verlauf bzw. bei Entlassung oder Sepsisende erreicht. In Gruppe B hielt der Trend zu höheren Werten während der Sepsis an. In Gruppe C streuten die Werte um oder unter dem Normbereich von Sepsisbeginn bis zum Tod.

Fazit:

Beobachtet wurde für alle 3 Gruppen:

- nach der Operation ein Absinken der Werte unter den Wert vor der Operation
- ein weiteres Absinken für 1 - 3 Tage
- danach ein Anstieg bis zum Normbereich (A,B) oder ein Streuen der Werte unterhalb des Normbereiches (C)

Die Aussagen wurden zunächst für die Patienten des Datensatzes KOMPL getroffen und anschließend bei den zusätzlichen Patienten (Datensatz All 1) auf Richtigkeit überprüft. Die Resultate aus KOMPL konnten durchgehend bestätigt werden.

6.3.2 α_1 PI

Die Abb. 47-50, 51-54 und 55-58 zeigen den Zeitverlauf der Gruppen A, B und C.

Dem anfänglichen Abfall der Inhibitoraktivitäten nach der Operation folgte in den nächsten 2-3 Tagen ein starker Anstieg bis in den oberen Normbereich (Patient 60) bzw. oberhalb des Normbereiches (übrige Patienten außer B 46 und C 40, wo keine Messungen vorlagen).

In Gruppe A blieben die Werte bis zur Entlassung oberhalb des Normbereiches (Patient 63) bzw. im oberen Normbereich (Patient 60) oder gingen vor Entlassung in den oberen Normbereich zurück.

In Gruppe B lagen die Werte bei Sepsisbeginn durchweg oberhalb des Normbereiches und stiegen nach Sepsisbeginn noch 1- 2 Tage an. Im weiteren Sepsisverlauf nahmen die Inhibitoraktivitäten kontinuierlich ab und waren bei Ende der Sepsis im Normbereich bzw. leicht darüber.

Auch in Gruppe C wurden bei Sepsisbeginn erhöhte Werte gefunden, der weitere Anstieg war nicht so ausgeprägt wie bei Gruppe B. Während des Fortgangs der Sepsis verblieben die Werte bis zum Tod oberhalb der Norm bzw. fielen in Richtung Normbereich ab.

Fazit:

Beobachtet wurde bei jeder der drei Gruppen:

- ein Absinken der Aktivitäten nach der Operation

- eine anschließende ausgeprägte Akutphasenreaktion
- ein Verbleib der Werte im oberen Normbereich bzw. darüber
- ein allmählicher Rückgang der Aktivitäten bis zum oberen Normbereich während des Sepsisverlaufes.

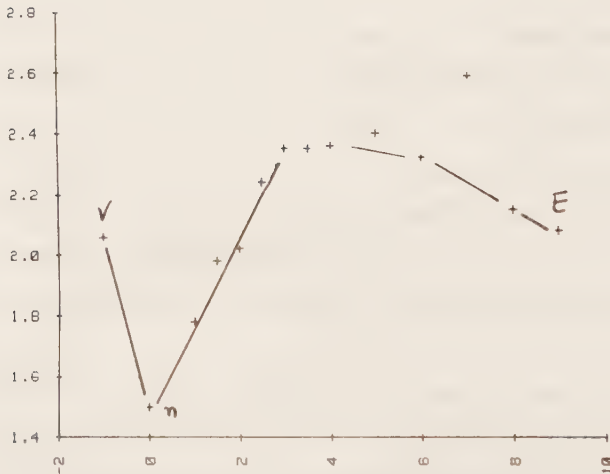


Abb. 47: α_1 PI, Patient Nr. 59 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

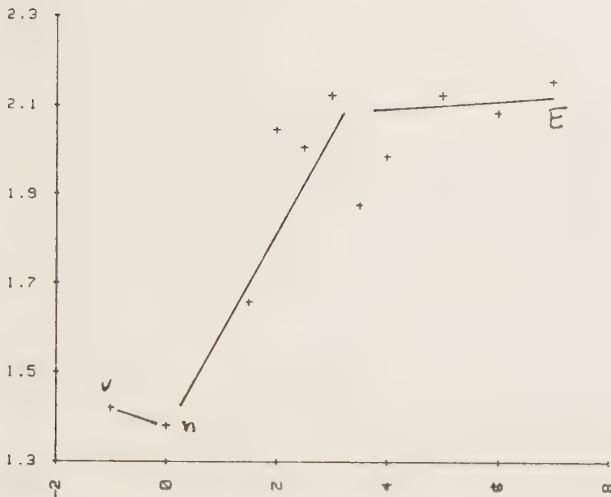


Abb. 48: α_1 PI, Patient Nr. 60 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

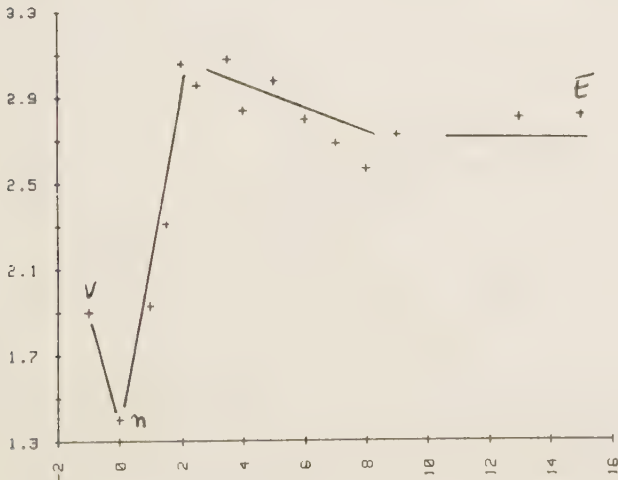


Abb. 49: α_1 PI, Patient Nr. 63 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

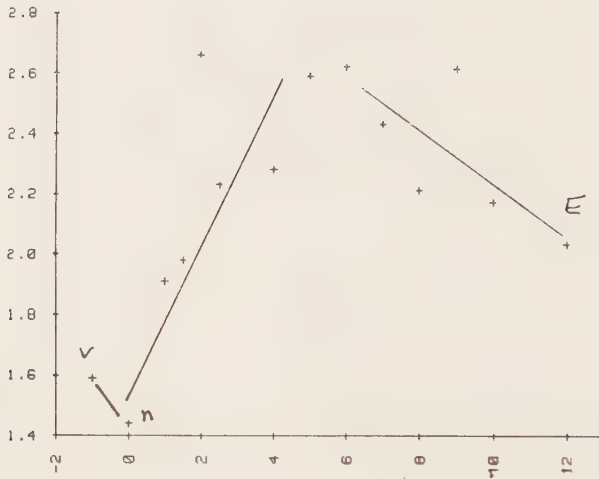
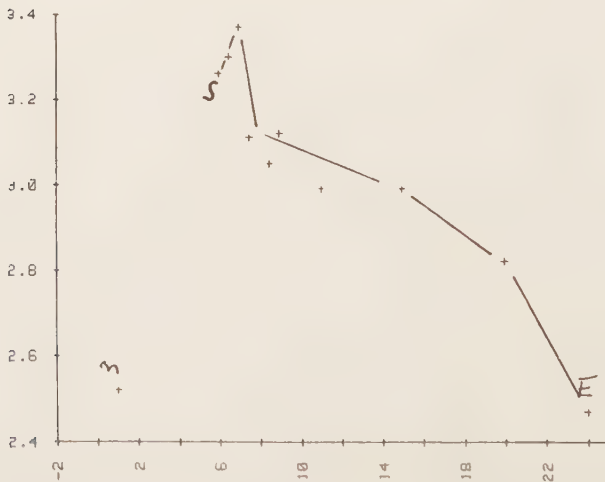


Abb. 50: α_1 PI, Patient Nr. 65 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation



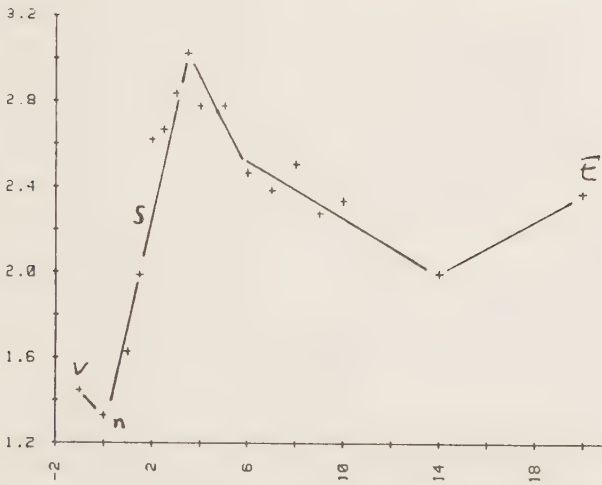


Abb. 52: α_1 PI, Patient Nr. 62 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

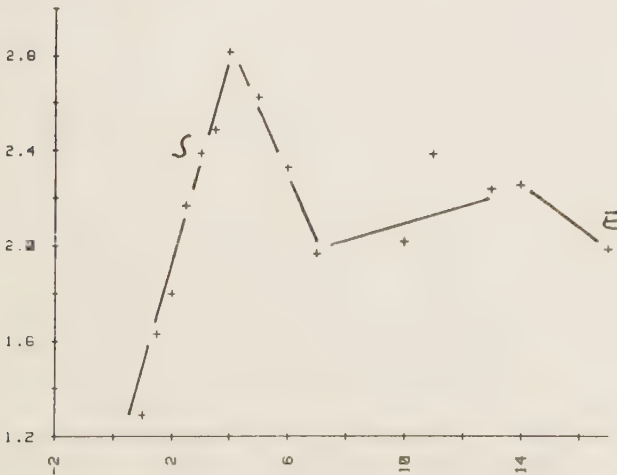


Abb. 53: α_1 PI, Patient Nr. 72 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

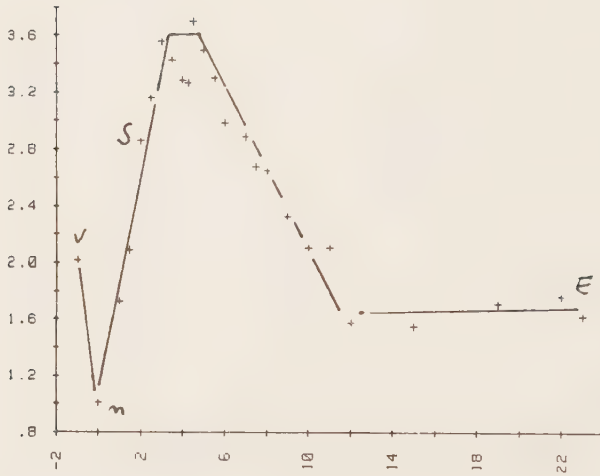


Abb. 54: α_1 PI, Patient Nr. 92 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

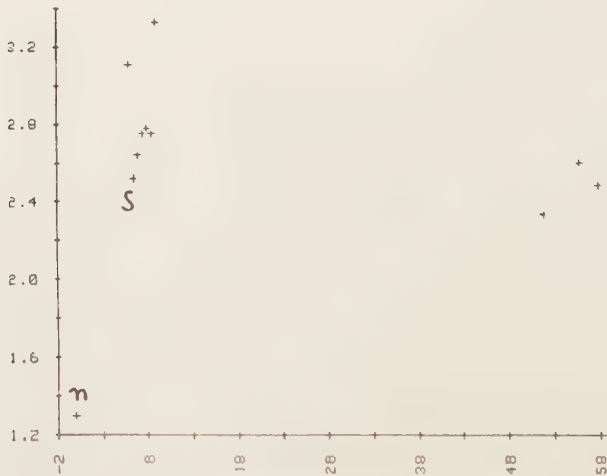


Abb. 55: α_1 PI, Patient Nr. 40 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

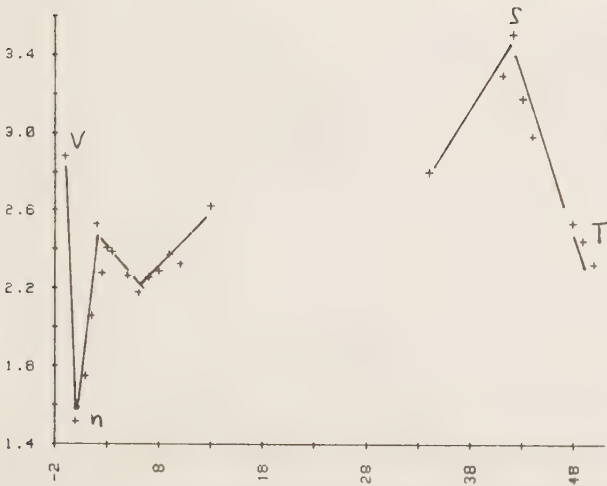


Abb. 56: α_1 PI, Patient Nr. 64 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

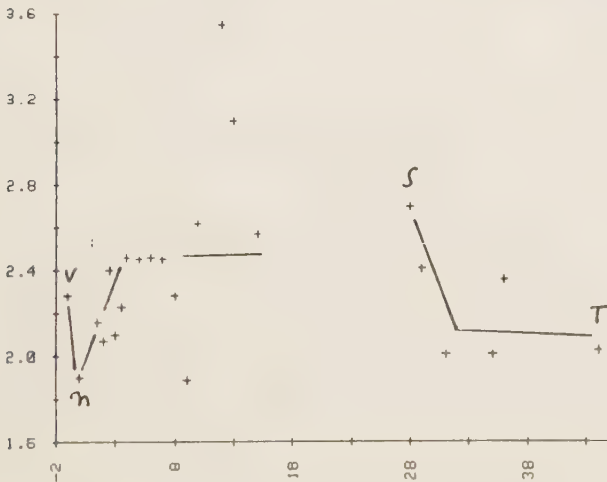


Abb. 57: α_1 PI, Patient Nr. 66 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

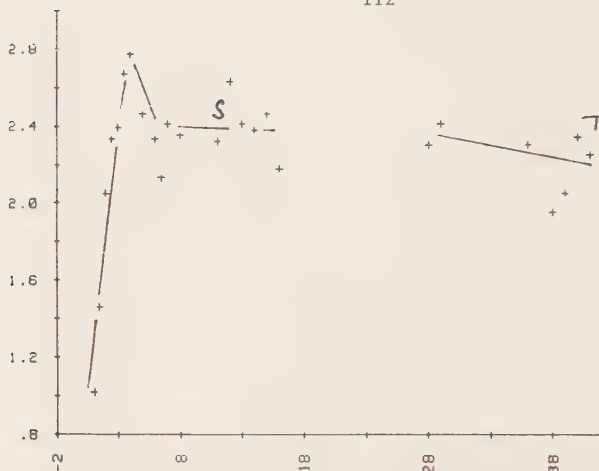


Abb. 58: α_1 PI, Patient Nr. 70 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

6.3.3. ATIII

Gruppe A ist in den Abb. 59-62, Gruppe B in den Abb. 63-66 und Gruppe C in den Abb. 67-70 dargestellt.

Nach der Operation sanken die Aktivitäten bei allen Patienten bis weit unter den Normbereich ab (Bereich 3,75 - 7,78 IU/ml). Das Minimum wurde zwischen 1,5 bis 3,5 Tagen erreicht (Ausnahme Patienten B 46 und C 40: keine Meßwerte für diesen Zeitraum vorhanden).

In Gruppe A erfolgte nach dem anfänglichen Abfall ein stetiger Anstieg bis hin zum Normbereich. Gleiches galt für Gruppe B. Auch Gruppe C zeigte in der frühen postoperativen Phase einen Anstieg bis hin zum Normbereich. Bei 3 Patienten der Gruppe C (64, 66, 70) fielen jedoch die Aktivitäten bei Sepsisbeginn deutlich ab

und verblieben bis zum Tod im erniedrigten Bereich (Patient 64) bzw. zeigten eine weiter fallende Tendenz (Patient 66 und 70). Ob diese Aussage auch für Patient 40 gilt, ist offen, da keine Messungen vor Eintritt des Todes vorlagen.

Fazit:

Nach der Operation wurde ein Absinken der Werte unter den Normbereich bei allen Patienten beobachtet sowie:

- ein weiteres Absinken für 1,5 - 3,5 Tage,
- bzw. danach ein allmählicher Anstieg der Werte in den Gruppen A und B bis hin zum Normbereich,
- auch in Gruppe C war eine Anstiegsphase zu verzeichnen. Bei Sepsisbeginn traten wieder stark erniedrigte Werte auf mit weiter fallender Tendenz bis hin zum Tod.

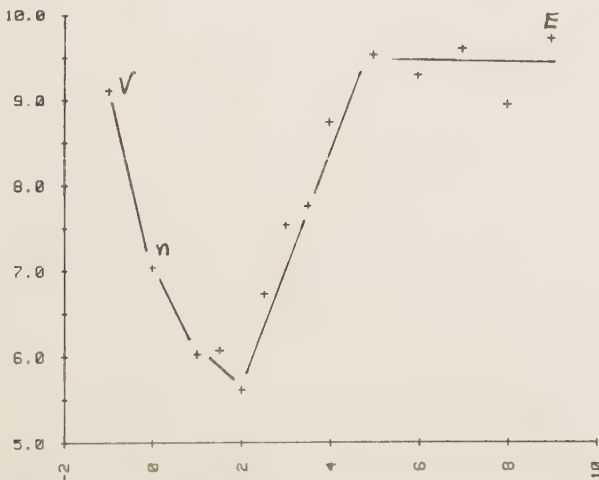


Abb. 59: ATIII, Patient Nr. 59 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

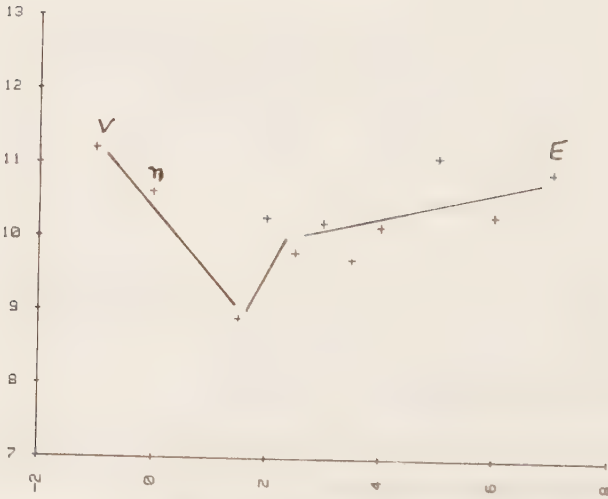


Abb. 60: ATIII, Patient Nr. 60 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

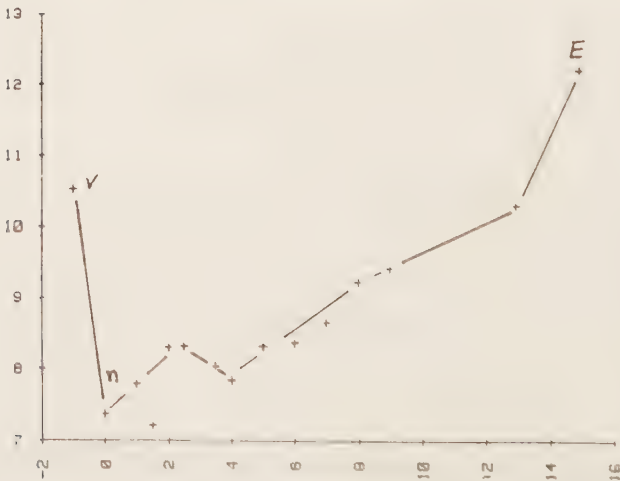


Abb. 61: ATIII, Patient Nr. 63 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

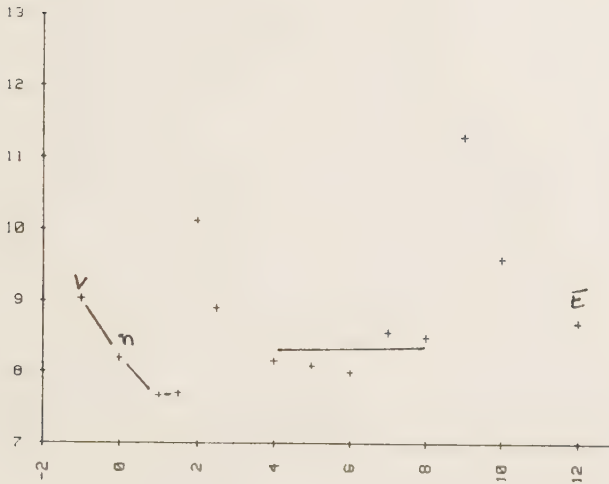


Abb. 62: ATIII, Patient Nr. 65 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

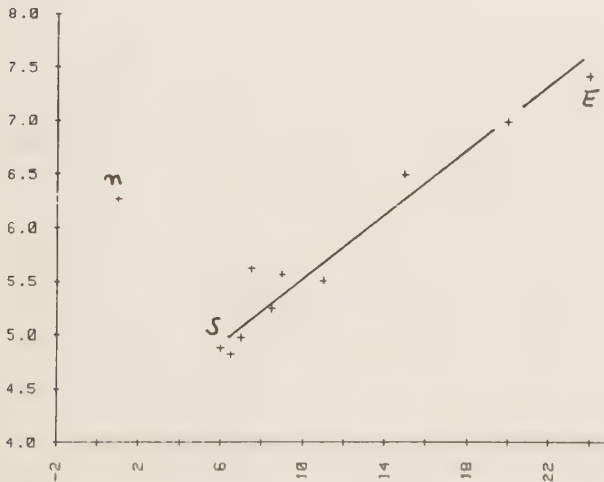


Abb. 63: ATIII, Patient Nr. 46 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

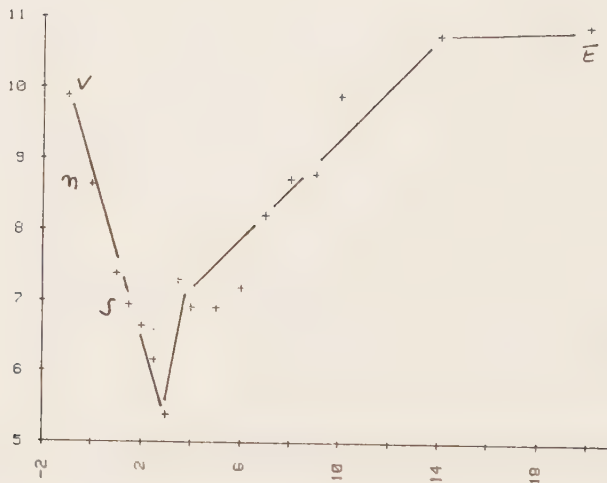


Abb. 64: ATIII, Patient Nr. 62 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

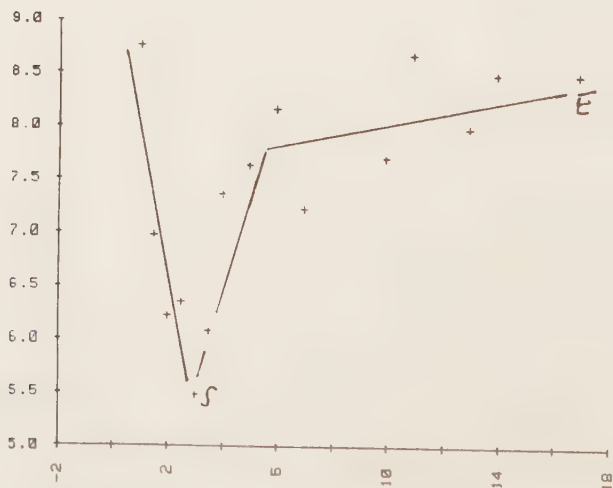


Abb. 65: ATIII, Patient Nr. 72 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

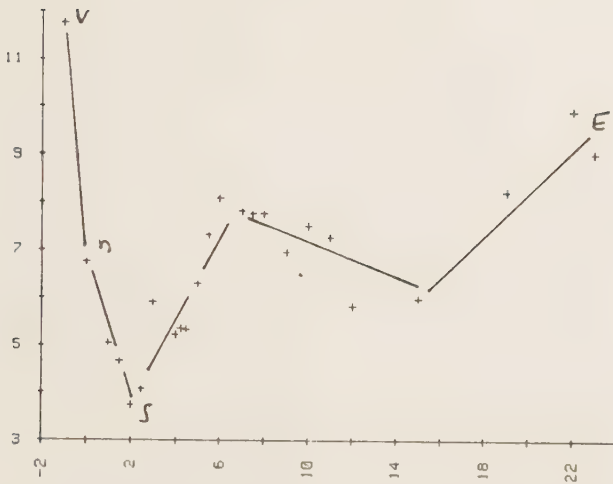


Abb. 66: ATIII, Patient Nr. 92 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

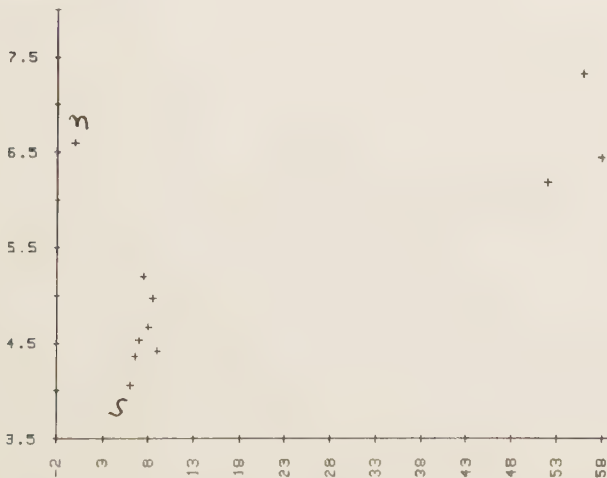


Abb. 67: ATIII, Patient Nr. 40 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

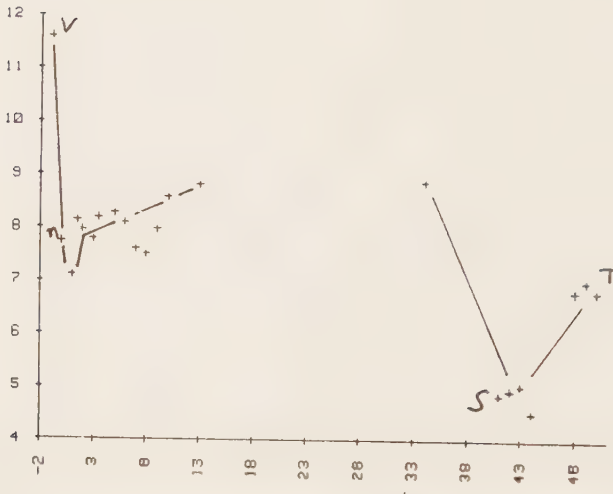


Abb. 68: ATIII, Patient Nr. 64 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

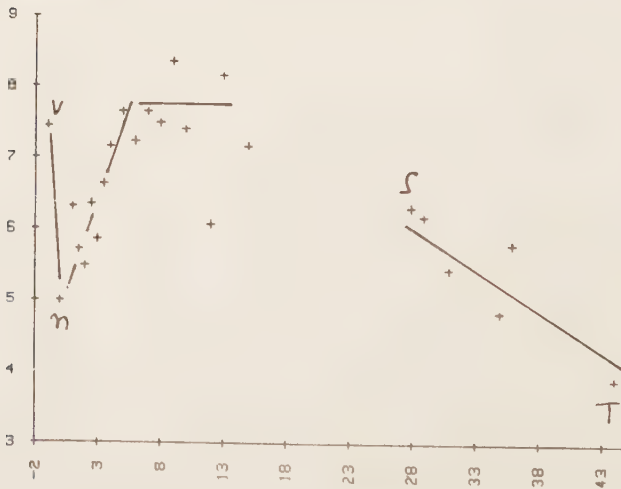


Abb. 69: ATIII, Patient Nr. 66 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

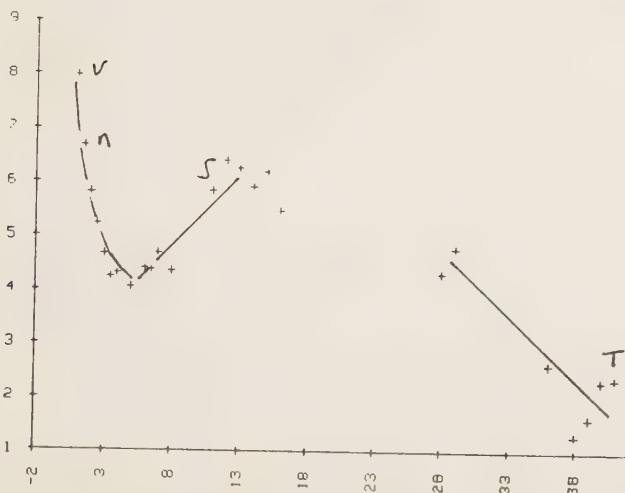


Abb. 70: ATIII, Patient Nr. 70 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

6.3.4 α_2 PI

Die zeitlichen Verläufe der Inhibitoraktivitäten bei den Patienten der Gruppe A, B und C sind in den Abb. 71-74, 75-78 und 79-82 zu sehen. Bei allen Patienten wurde nach der Operation eine Verminderung der Inhibitoraktivität gemessen. Bis auf Patient A 63 (leicht unter der Norm) lagen die Werte aber durchwegs im Normbereich.

In den folgenden 2 - 3 Tagen wurde in allen Fällen ein kontinuierlicher Anstieg beobachtet. Bei den Patienten B 46 und C 40 lagen für diesen Zeitraum jedoch keine Plasmaproben vor.

Der Anstieg führte entweder über den Normbereich hinaus (Patient A 59, A 63, A 65, B 72, B 92, C 64) oder verblieb im Normbereich (übrige Patienten). Nach Ende des Anstiegs gingen die Werte in den Normbereich zurück bzw. verblieben dort.

Der Sepsisbeginn war bei Gruppe B entweder 1,5 - 3 Tage nach der Operation zu verzeichnen, d. h. zu einem Zeitpunkt, wo sich die α_2 PI-Werte wieder normalisierten. Die Trends von Sepsisbeginn bis Sepsisende unterschieden sich nicht von der Kontrollgruppe.

In Gruppe C trat Sepsis zwischen 6 und 50 Tagen nach der Operation ein. Die Werte streuten vor Sepsisbeginn und während des Sepsisverlaufes im Normbereich.

Fazit:

Beobachtet wurde:

- ein Absinken der Aktivitäten nach der Operation
- eine anschließende Akutphasenreaktion, gefolgt von einer schnellen Normalisierung der Werte
- keine unterschiedlichen Trends zwischen den Gruppen A, B und C.

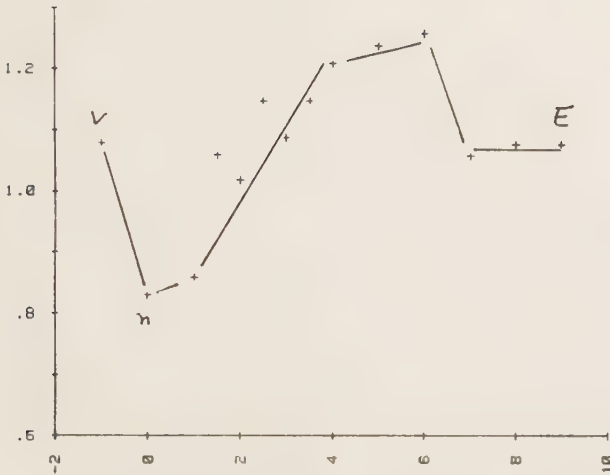


Abb. 71: α_2 PI, Patient Nr. 59 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

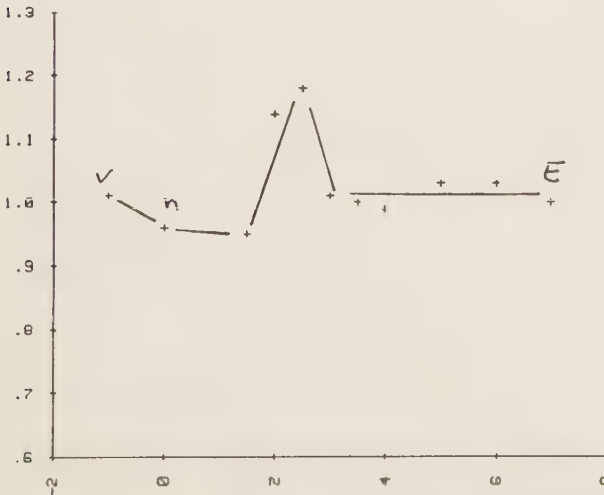


Abb. 72: α_2 PI, Patient Nr. 60 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

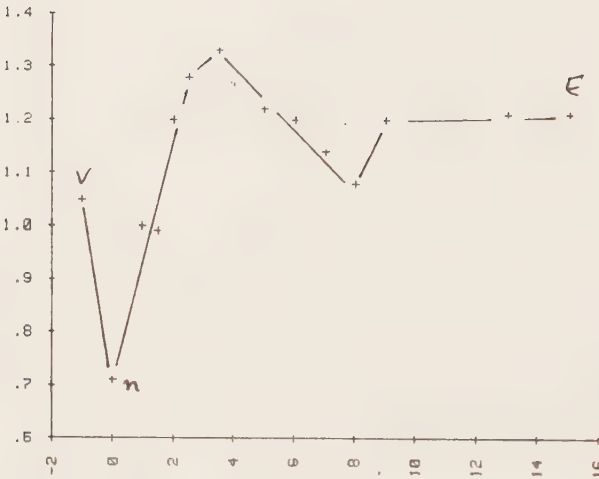


Abb. 73: α_2 PI, Patient Nr. 63 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

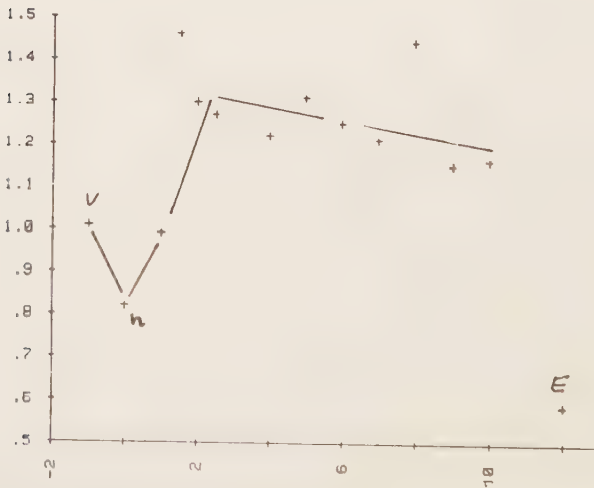


Abb. 74: α_2 PI, Patient Nr. 65 (Gruppe A); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

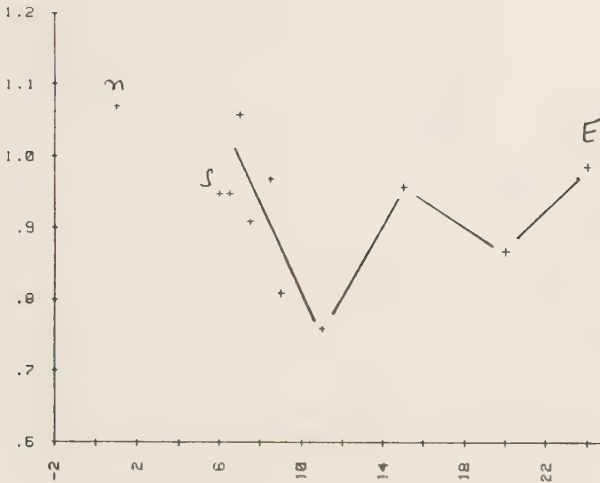


Abb. 75: α_2 PI, Patient Nr. 46 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

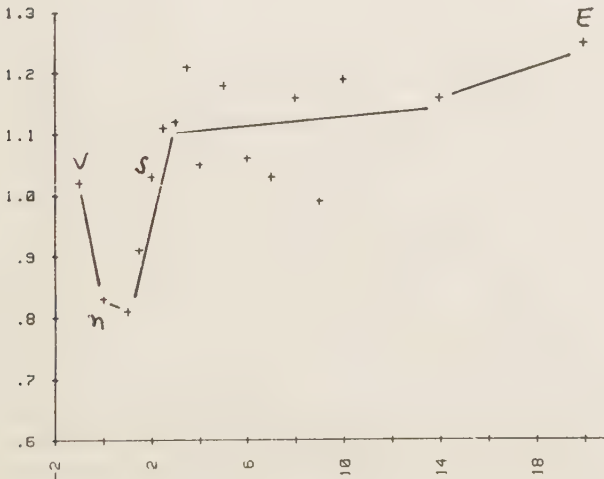


Abb. 76: α_2 PI, Patient Nr. 62 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

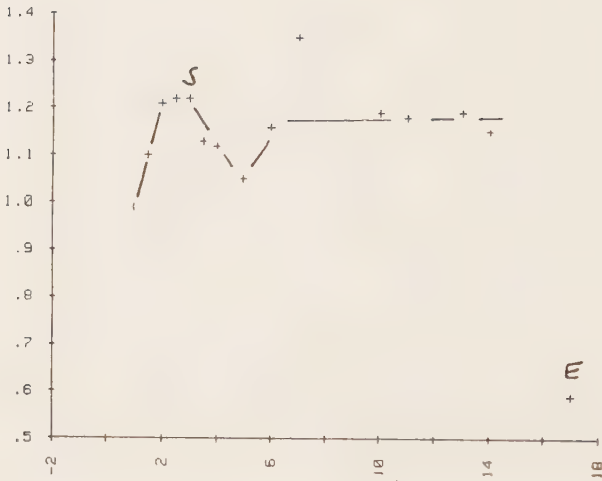


Abb. 77: α_2 PI, Patient Nr. 72 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

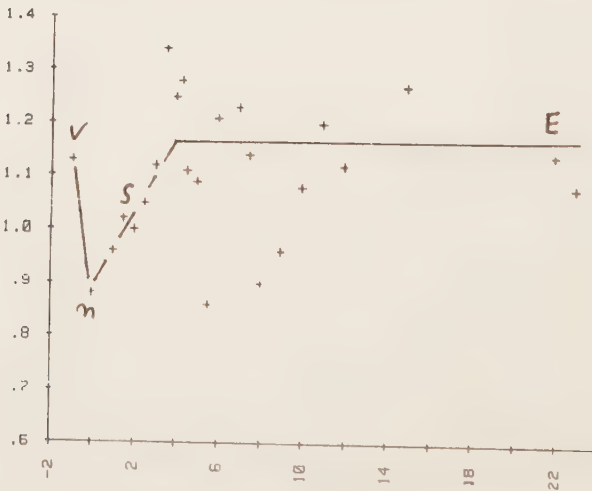


Abb. 78: α_2 PI, Patient Nr. 92 (Gruppe B); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

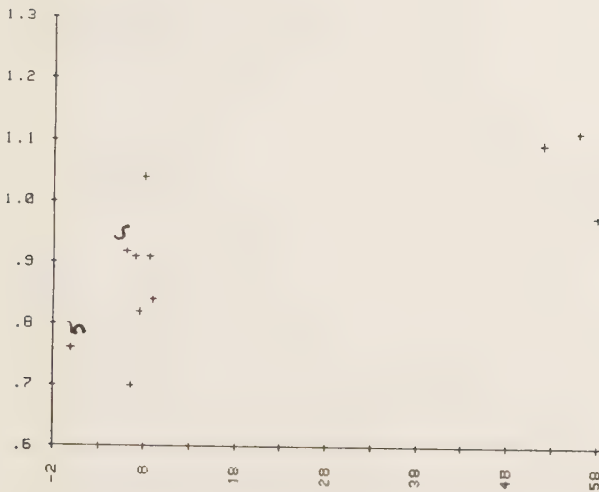


Abb. 79: α_2 PI, Patient Nr. 40 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

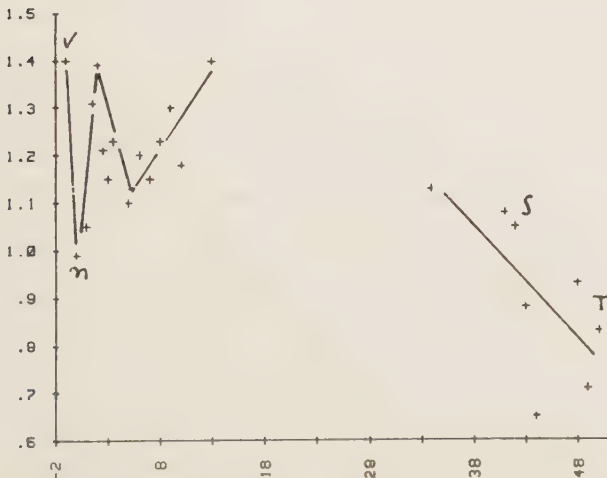


Abb. 80: α_2 PI, Patient Nr. 64 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

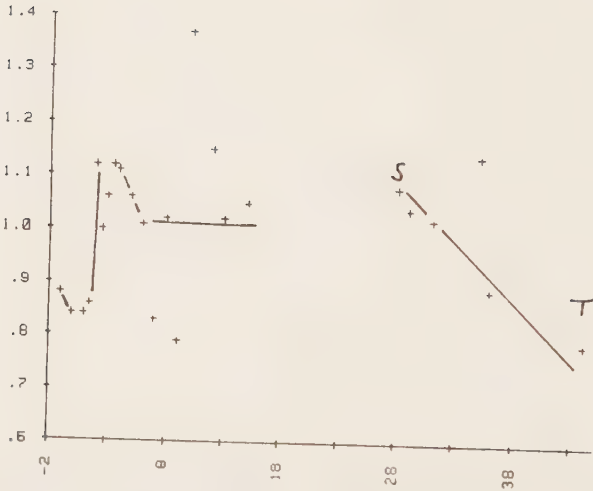


Abb. 81: α_2 PI, Patient Nr. 66 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

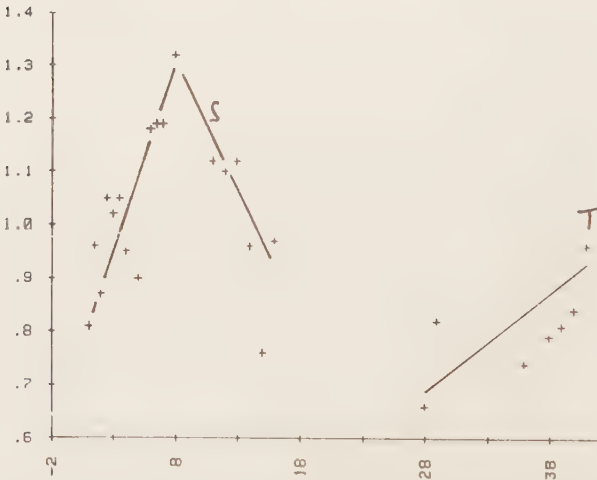


Abb. 82: α_2 PI, Patient Nr. 70 (Gruppe C); zeitlicher Verlauf der Aktivität in IU/ml (Ordinate); Abszisse: Anzahl der Tage nach der Operation

7. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

7.1. METHODISCHES

a) Auswahl der Meßmethoden

Zur Bestimmung der hier vorgestellten Inhibitoren gibt es zwei grundsätzlich verschiedene Verfahren, nämlich

- a) immunologische und
- b) funktionelle

Beide Verfahren sind für α_2^M (14,15,24,40,65), α_1PI (16,17,40,47), ATIII (51,54,68), und α_2PI (11,19) beschrieben.

Bei den immunologischen Methoden werden, je nach Art und Qualität des eingesetzten Antiserums, verschiedene Epitope des Inhibitor-moleküls erkannt. Dabei spielt es keine Rolle, ob der Inhibitor frei vorliegt, mit einer Protease bereits komplexiert, ist oder durch sonstige Einwirkungen, wie beispielsweise Proteolyse oder Oxidation (z. B. der Methioninrest im aktiven Zentrum von α_1PI , siehe Ref. 10), seine Protease-Bindungsfähigkeit verloren hat.

Bei den funktionellen Tests wird die Hemmwirkung des Inhibitors gegenüber seines "Zielenzyms" bestimmt. Dies setzt ein intaktes Molekül voraus, sodaß im Gegensatz zu den immunologischen Verfahren nur funktionell aktiver Inhibitor erfaßt wird.

Beide Methoden ergeben für $\alpha_2\text{M}$ aufgrund der raschen Elimination des komplexierten Inhibitors (Halbwertszeit ca. 10 min, Ref. 15,51) bei gesunden Probanden im allgemeinen gut übereinstimmende Ergebnisse (14,15), was auch durch die vorliegenden Messungen (s. Abb. 15) bestätigt wurde. Bei pathologischen Zuständen, wie Erkrankungen der Leber, der Niere oder bei Carcinomen, wurden jedoch auch divergierende Resultate hinsichtlich der Aktivität bzw. der immunologischen Konzentration von $\alpha_2\text{M}$ gefunden (27).

Letzteres gilt auch für $\alpha_1\text{PI}$ und ATIII. Bei Patienten mit disseminierter intravasculärer Gerinnung zeigten sich zwischen funktionellem und immunologischem ATIII-Test große Unterschiede (25). Nur der funktionelle Test erwies sich zur Erkennung von postoperativen thrombotischen Komplikationen geeignet (38). Weitere Autoren bestätigten die Ansicht, daß immunologische Meßmethoden keinen Hinweis auf die biologische Aktivität von ATIII geben können (21,50,51,57). Die eigenen Ergebnisse zeigten ebenfalls nur eine mäßige Korrelation zwischen den beiden Methoden (Abb. 16). Der Grund liegt wohl darin, daß die besonders unter Heparintherapie sehr rasch gebildeten Thrombin-Antithrombin-III-Komplexe wesentlich länger als die $\alpha_2\text{M}$ -Komplexe zirkulieren und neben dem nicht komplexgebundenem freien ATIII immunologisch nachgewiesen werden. Die mangelnde Parallelität im Verlauf der ATIII-Werte in den Abb. 17, 18 und 19 könnte auf diese Weise erklärt werden.

Für α_2 PI sind solche Diskrepanzen nicht beschrieben worden, dies aber wohl nur deshalb, weil bisher entsprechende Untersuchungen nicht durchgeführt wurden.

Aus den dargestellten Gründen wurden den folgenden Vergleichen zwischen den drei Gruppen nur die Daten der funktionellen Tests zugrunde gelegt.

b) Qualität der Plasmaproben

Da alle Plasmaproben bis zur Analyse unterschiedlich lange bei -70°C gelagert wurden, spielt die Haltbarkeit der untersuchten Parameter eine wichtige Rolle. Nach Angaben der Firma Boehringer Mannheim (Beipackzettel zu den Testpackungen) verändern sich die Inhibitoraktivitäten bei -20°C über einen Monat nicht. Gressner und Peltzner (27) untersuchten die Lagerstabilität von α_1 PI und α_2 M. Bei -20°C war α_1 PI mindestens 20 Wochen stabil, während bei gleicher Temperatur nach 3 Wochen die Aktivität von α_2 M kontinuierlich abnahm (Abnahme zwischen 3 und 20 Wochen ca. 15 %). Über die Stabilität der Inhibitoren bei -70°C ist bisher nichts publiziert. Eigene Vorversuche haben jedoch gezeigt, daß nach 3-monatiger Lagerung der Proben bei dieser Temperatur nicht mit einer nennenswerten Abnahme der Inhibitoraktivität zu rechnen ist.

Da das Alter der Proben jedes einzelnen Patienten in etwa gleich war (Zeitunterschied zwischen erster und letzter Probennahme war in der Regel nicht mehr als 2 - 3 Wochen) kann zumindest davon ausgegangen werden, daß die Proben jedes einzelnen Patienten

hinsichtlich Stabilität untereinander vergleichbar waren. Weiterhin lagen die α_2 PI-Aktivitäten bei allen Gruppen im postoperativen Verlauf im Normbereich, was mit Literaturdaten übereinstimmt. Ähnliches gilt für α_1 PI, der bei - 20°C erwiesenermaßen 5 Monate stabil ist (27). Daher kann angenommen werden, daß bei den Parametern α_2 PI und α_1 PI die Lagerstabilität gegeben war.

c) Qualität der Meßmethoden

Alle 4 funktionellen Tests lieferten zuverlässige und richtige Ergebnisse. Lediglich bei α_2 PI war die Präzision im stark erniedrigten Bereich nicht zufriedenstellend. Die schlechte Präzision des Tests in diesem Bereich spielte jedoch für die vorliegende Untersuchung keine Rolle, da die α_2 PI-Aktivitäten bei allen Patienten im Normbereich bzw. darüber lagen. Teststörungen durch häufig verwendete Plasmaexpander konnten bei α_2 M nicht festgestellt werden.

7.2. NORMBEREICHE

Aufgrund der Vielzahl der Methoden und der möglichen Varianten der einzelnen Methoden (z. B. bei Testtemperatur 25°C oder 37°C) werden in der Literatur recht unterschiedliche Normbereiche angegeben. Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit rechnen viele Autoren die Inhibitor-Aktivitäten in % der Norm um, wobei 100 % der Mittelwert eines nicht immer wohldefinierten Normalkollektivs ist. Erschwerend kommt hinzu, daß die Inhibitoraktivitäten zwischen gesunden Probanden großen Schwankungen unterliegen, so daß die Angabe von Normbereichen erforderlich ist.

Für die hier verwendeten Tests wurden in publizierten Untersuchungen (α_2 M Ref. 67 und 69 a, α_1 PI Ref. 68, ATIII Ref. 31, α_2 PI Ref. 37) die Normbereiche ermittelt. Die Werte zwischen dem 5 - und dem 95 Perzentil des jeweiligen Normalkollektivs wurden als Normbereich definiert, d. h. jeweils 5 % der gesunden Probanden lagen über oder unter dem festgelegten Bereich. Die vorliegende Arbeit bezieht sich auf diese publizierten Daten.

7.3. NORMIERUNG AUF DIE WERTE VOR DER OPERATION

Wie im vorhergehenden Abschnitt ausgeführt, müssen bei den hier untersuchten Inhibitoren wegen der großen Schwankungsbreite der Aktivitäten innerhalb eines gesunden Probandenkollektivs Normbereiche angegeben werden. Bei Bezugnahme auf den Wert vor

der Operation wird jedoch nicht auf einen Bereich normiert, sondern auf einen Meßwert. Dieser Wert ist natürlich auch mit einem Bestimmungsfehler behaftet. Hinzu kommt, daß zwar die Mittelwerte aller Patienten vor der Operation im Normbereich lagen, durchaus aber nicht immer die individuellen Inhibitoraktivitäten. Bei α_2M war dies bei 5 von 18 Patienten, bei α_1PI bei 2 von 8 Patienten, bei ATIII bei 4 von 8 Patienten, und bei α_2PI bei 1 von 8 Patienten der Fall.

Die Normierung aller nachfolgenden Werte eines Patienten auf den Wert vor der Operation und anschließende Vergleiche zwischen den Patientengruppen erscheint daher wegen:

- a) des möglichen Meßfehlers bei der Bestimmung dieses einen Wertes
- b) der großen Schwankungsbreite der Inhibitoraktivitäten bei gesunden Personen und
- c) der tatsächlich beobachteten Schwankungsbreite (z. B. α_2M vor der Operation 2,81 bis 8,61 IU/ml, d. h. bei Patient A entsprechen 2,81 IU/ml 100 %, bei Patient B 8,61 IU/ml 100 %)

zu einem vollkommen anderen Gesamtbild führen. Dies zeigt sich auch beim Vergleich der Inhibitoraktivitäten während der verschiedenen Phasen des Krankheitsverlaufes (s. Abb. 26- 33), wo sich ohne und mit Normierung unterschiedliche Aussagen ergaben. Aus diesen Gründen sind die Resultate, die mit normierten Daten erhalten wurden, als nicht verläßlich anzusehen und werden daher nicht weiter diskutiert.

Anders verhält es sich natürlich, wenn keine statistischen Betrachtungen von normierten Datenblöcken vorgenommen, sondern nur Tendenzen festgestellt werden. So behält beispielsweise die Aussage, daß bei allen Patienten die Inhibitoraktivitäten nach der Operation abnahmen, trotz Normierung weiterhin Gültigkeit, weil keine Datenblöcke, sondern lediglich die 2 Meßwerte jedes einzelnen Patienten für sich normiert wurden. Die Normierung erfolgte nur für die graphische Darstellung (s. Abb. 24 und 26).

7.4. INHIBITORAKTIVITÄTEN VOR UND WÄHREND SEPSIS

Für die Diskussion der Inhibitoraktivitäten vor und während Sepsis ist es zunächst wichtig zu wissen, wie der Körper auf "entzündliche Reize" reagiert.

Als entzündliche Reaktion wird im allgemeinen die Antwort des Organismus auf einen schädigenden Reiz verstanden. Einem schädigenden Reiz, nämlich der Operation, waren alle Patienten ausgesetzt, die der Gruppen B und C erlitten noch zusätzlich eine Sepsis.

Der Organismus reagiert auf Entzündungsstimuli mit einer Reihe von systemischen Vorgängen wie Leukozytose, Fieber, erhöhte Blutsenkungsgeschwindigkeit und Konzentrationsanstieg von bestimmten Serumproteinen. Für die Gesamtheit dieser Phänomene haben Abernethy und Avery (3) den Begriff "Akutphase der Entzündung" geprägt. Auch bei Herzinfarkt, rheumatischer Arthritis oder Malignomen erhöhen sich die Serumspiegel

bestimmter Proteine. Diese Proteine werden als "Akutphasenproteine" bezeichnet (56). Es handelt sich meist um Glycoproteine mit vielfältigen Funktionen, etwa als Faktoren im Komplement- und Gerinnungssystem oder als Proteaseinhibitoren.

Von den hier untersuchten Inhibitoren sind zwei, nämlich α_1 PI (64) und α_2 PI (42) Akutphasenproteine, während α_2 M und ATIII beim Menschen nicht als Akutphasenproteine gelten (30).

7.4.1 α_2 M

Der Verlauf der α_2 M-Spiegel nach Operationen mit komplikationsloser postoperativer Phase wird in der Literatur durchaus unterschiedlich beschrieben. So berichten 2 Gruppen von Autoren, daß keine Veränderungen beobachtet wurden, sowohl bei Bestimmung von α_2 M mit funktionellem Test (6) als auch bei Bestimmung mittels radialer Immundiffusion (66). Ein anderer Autor stellte dagegen eine Abnahme, gefolgt von einem kontinuierlichen Anstieg bis auf das präoperative Niveau (64) fest. Die eigenen Befunde stimmen mit denen der letztgenannten Untersuchung überein.

Das Minimum in der postoperativen Phase bei Gruppe A lag bei ca. 50% des Ausgangswertes. Verminderte Konzentrationen an α_2 M wurden bei Sepsis, septischem Schock und/oder disseminierter intravasculärer Gerinnung berichtet (2,22,34,70). Die eigenen Untersuchungen ergaben während der Sepsisphase ebenfalls im

Vergleich zum Normbereich deutlich erniedrigte Werte. Dies könnte auf einen erhöhten Verbrauch dieses Inhibitors während Sepsis hinweisen. Dem steht jedoch entgegen, daß

- a) die Mittelwerte der Kontrollgruppe sowie der Gruppen B und C vor und bei Sepsis nicht signifikant unterschiedlich waren und
- b) bei 3 Patienten der Gruppe B (Nr. 62, 72, 92) die Werte während der Sepsis rasch in den Normbereich anstiegen.

Ein starker Verbrauch an α_2M während der Sepsis konnte somit nicht sicher nachgewiesen werden. Die vorliegende Arbeit ergab keine Hinweise darauf, daß α_2M einen trennscharfen Parameter zur Sepsiserkennung darstellt.

Die eigenen Ergebnisse werden durch eine Studie an 9 Patienten mit disseminierter intravasculärer Gerinnung bestätigt (36). Untersucht wurde, ob C1-Inhibitor und α_2M als physiologisch wichtigste Kallikrein-Inhibitoren (23,26,29) prognostische Aussagen zum Krankheitsverlauf erlauben. Die α_2M -Konzentration lag während des Schockzustandes je nach Patient sowohl im Normbereich als auch darunter. Die über alle Patienten gemittelte α_2M -Konzentration war während des Schocks niedriger als die der Kontrollgruppe, die beiden Mittelwerte unterschieden sich jedoch nicht signifikant voneinander.

In einer weiteren Studie (8) wurden die α_2 M-Konzentrationen von 60 Patienten mit tiefer venöser Thrombose (n = 45) und Lungenembolie (n = 15) mit einer Kontrollgruppe (n = 50) mit verschiedenen Krankheiten und mit gesunden Personen (n = 36) verglichen. Blutproben wurden innerhalb von 36 Stunden nach Auftreten der ersten klinischen Anzeichen für Thromboembolie entnommen. Die mittlere Konzentration an α_2 M war in der Kontrollgruppe niedriger als die der gesunden Personen. Bei Patienten mit Thrombosen oder Embolie wurde kein weiterer Abfall gesehen, d. h. es ergab sich kein Unterschied zur Kontrollgruppe.

Da sowohl die eigenen Befunde als auch die Angaben in der Literatur zeigten, daß verminderte und normale Konzentrationen bzw. Aktivitäten von α_2 M in vielen Situationen auftreten - wie etwa im postoperativen Verlauf, bei Lungenembolie, bei tiefen venösen Thromben, bei disseminierter intravasculärer Gerinnung, bei Herzinfarkt, bei Diabetes oder bei malignen Erkrankungen - scheint die Bestimmung von α_2 M wenig diagnostische Aussagekraft zu haben.

7.4.2. α_1 PI

Das Verhalten von α_1 PI in der postoperativen Phase ohne Komplikationen wurde von verschiedenen Autoren beschrieben. α_1 PI nahm bis zu 12 Stunden nach der Operation leicht ab (auf 80 - 90 % des Wertes vor der Operation), stieg dann steil an, wobei das Maximum nach 3 - 4 Tagen erreicht wurde. Im weiteren Verlauf fielen die Werte in den Normbereich oder blieben weiterhin erhöht (6,42,64,66). Gemessen wurde α_1 PI mit immuno-

logischen Methoden. Die eigenen Befunde, die mit einem funktionellen Test erhoben wurden, stimmten für Gruppen A, B und C mit denen der Literatur voll überein. Neu war allerdings, daß α_1 PI kontinuierlich während des Sepsisverlaufes bestimmt wurde.

Bei Sepsisbeginn lagen die Werte in den Gruppen B und C oberhalb der Norm. Bei der Gruppe C trat die Sepsis nach der Akutphasenreaktion ein. Der weitere Anstieg der Werte in den Gruppen B und C ist wohl damit zu erklären, daß durch die Sepsis eine weitere Bildung des Akutphasenproteins induziert wurde. Auch beim Vergleich der gemittelten Inhibitoraktivitäten vor und während der Sepsis konnten zwischen den einzelnen Gruppen keine konsistenten Unterschiede gefunden werden.

Der Plasmaspiegel an Inhibitoraktivität lag während der septischen Phase über der Norm oder im oberen Normbereich. Ein stark gesteigerter Verbrauch bei Sepsis konnte somit nicht nachgewiesen werden.

7.4.3 ATIII

Eine große Anzahl von Patienten mit kongenitalem ATIII-Mangel leiden das ganze Leben an thrombo-embolischen Krankheiten (20,39). Das Thromboserisiko steigt beträchtlich mit abnehmenden ATIII-Aktivitäten (12,48,60). Lynch et al. (38) berichteten, daß die präoperativen ATIII-Werte von Patienten, die wegen Herz- und schwerwiegenden Gefäßkrankheiten operiert wurden, bei später

eintretenden thrombotischen Komplikationen signifikant niedriger waren als bei komplikationslosem Verlauf. Bei disseminierter intravasculärer Gerinnung wurden ebenfalls erniedrigte ATIII-Aktivitäten gefunden (25,36), ebenso bei akutem Leberversagen (63).

Lämmle et al (36) beobachteten bei zwei Patienten im letalen, irreversiblen Schockzustand deutlich erniedrigte ATIII- und Plasmakallikrein-Aktivitäten, während bei Patienten mit reversiblen Schock die Werte stabil blieben oder anstiegen. Fritz (22) und Witte et al (70) beschrieben, daß die ATIII-Konzentrationen (immunologisch bestimmt) zu Beginn des septischen Schocks ca. die Hälfte des Normalwertes betrugen und dann bei den Patienten, die den Schock überlebten, langsam anstiegen, während sie bei tödlichem Verlauf niedrig blieben bzw. noch weiter abfielen. Gleiches wurde von Schipper et al (59) berichtet. Auch Prellwitz et al. (54) beobachteten bei ihren Patienten (n = 58) im Schockzustand erniedrigte Werte. Diese Befunde verdeutlichen, daß ATIII seine physiologische Funktion - nämlich die Aktivitäten der Faktoren Xa und Thrombin in engen Grenzen zu regulieren, um Thrombosen zu vermeiden - nur erfüllen kann, wenn der Blutspiegel dieses Inhibitors im oder in der Nähe des Normbereiches liegt.

Die eigenen Untersuchungen zeigten, daß die ATIII-Aktivitäten vor der Operation alle im Normbereich oder leicht darunter lagen. Bei einigen Patienten gab es keine präoperativen Plasmaproben. Hier waren die ersten Meßpunkte (1 Tag nach der Operation) bereits deutlich unter dem Normbereich; dies traf aber auch auf die anderen Patienten zu.

Bei allen Patienten nahmen die ATIII-Aktivitäten wegen der erlittenen Gewebe- und Gefäßverletzungen nach der Operation für 1,5 - 3 Tage stetig ab. Bei der Kontrollgruppe war ein kontinuierlicher Anstieg bis hin zum Normbereich zu sehen. Auch für Gruppe B - Patienten, die die Sepsis überlebten - war die Tendenz die gleiche. Bei tödlichem Ausgang der Sepsis verblieben die Werte im stark erniedrigten Bereich oder zeigten eine weiter fallende Tendenz. Nach Sepsisbeginn ansteigende ATIII-Aktivitäten zeigen daher eine günstige Prognose an, da mit Überwinden der Krise gerechnet werden kann. Diese Befunde stimmen mit denen von Fritz (22) überein, obwohl in dessen Untersuchung nicht die ATIII-Aktivitäten sondern die ATIII-Konzentrationen gemessen wurden.

Bei Betrachtung der Mittelwerte der einzelnen Gruppen waren die Werte von Gruppe A signifikant höher als die der Gruppe B und die wiederum signifikant höher als die der Gruppe C. Auch während des Sepsisverlaufes lagen die Inhibitoraktivitäten der Gruppe B signifikant über denen der Gruppe C. Bei der Gruppe B war der Mittelwert der ATIII-Aktivitäten in der Phase vor Sepsis zu dem der Phase nach Sepsis nicht signifikant verschieden. Das gleiche galt für Gruppe C. In beiden Gruppen fielen die Aktivitäten vor Sepsis sehr rasch ab (x : 6 - 7 IU/ml). Nach Einsetzen der Sepsis erfolgte der Anstieg in Gruppe B allmählich, so daß ein Mittelwert von ca. 7 IU/ml resultierte, während Gruppe C im erniedrigten Bereich verblieb (x : 5 IU/ml). Wegen der individuellen Streuungen der Werte ergab sich kein signifikanter

Unterschied. Dies bedeutet, daß für Prognosen zum Sepsisverlauf die ATIII-Aktivität über die gesamte Dauer der Sepsis verfolgt werden muß.

7.4.4 α_2 PI

Für α_2 PI wurde beschrieben, daß die Aktivität 2 Stunden nach einem chirurgischen Eingriff abnahm, gefolgt von einem Anstieg über mehrere Tage. Die Maximalwerte wurden am 3. Tag erreicht und fielen dann wieder kontinuierlich ab (42). Die eigenen Ergebnisse bestätigen die Angaben der Literatur. Neu war auch hier, daß die Messungen der α_2 PI-Aktivitäten sequentiell während des Sepsisverlaufes erfolgten. Ein Absinken des Inhibitorspiegels während Sepsis wurde nicht beobachtet. Daher kann davon ausgegangen werden, daß das Inhibitorpotential ausreicht, um das bei möglicher Aktivierung entstehende Plasmin abzufangen. α_2 PI ist ebenso wie α_1 PI kein geeigneter Parameter für die Erkennung und Verlaufskontrolle der Sepsis.

8. SCHLUßBETRACHTUNGEN

In der vorliegenden Studie erwies sich ATIII - als bedeutendster Inhibitor des Gerinnungssystems - für die Verlaufskontrolle der Sepsis als ein Parameter mit prognostischer Aussagekraft. Für α_2 PI und α_1 PI traf dies nicht zu, verursacht wohl dadurch, daß beide Inhibitoren Akutphasen-Proteine sind und vermehrter Verbrauch durch die erhöhte Synthese ausgeglichen wird. Daher wurden in der kritischen Sepsisphase keine auffällig verminderten Plasmaspiegel gemessen, die Aktivitäten lagen vielmehr im Normbereich oder darüber. Auch bei α_2 M konnten während der Sepsis keine drastischen Veränderungen beobachtet werden. Die Werte streuten durchwegs um den unteren Normbereich.

ATIII ist sicherlich nicht der einzige klinisch-chemische Parameter, der bei Sepsis signifikante Änderungen zeigt. Hervorzuheben ist hier insbesondere der Elastase- α_1 -Antitrypsin Komplex, dessen prognostische Bedeutung gerade bei Sepsispatienten von Duswald (18) aufgezeigt wurde.

Die neutrale Proteinase Elastase wird in erhöhtem Maße während schwerer Entzündungsprozesse aus polymorphkernigen Granulozyten freigesetzt und tritt in der Zirkulation hauptsächlich im Komplex mit α_1 -Antitrypsin (= α_1 -Proteinaseinhibitor) auf.

Gleichzeitig mit der Zunahme der komplexierten Elastase im Plasma bei Eintritt der Sepsis konnte ein signifikanter Abfall der inhibitorischen Aktivität von ATIII verzeichnet werden. Die Normalisierung des ATIII bei Überwinden der Sepsis bzw. eine anhaltende Verminderung des ATIII-Gehaltes bei weiterbestehender

schwerer Infektion korrelierte signifikant mit abfallenden bzw. hohen Konzentrationen an komplexierter Elastase. Es ist daher aufgrund von in vitro Versuchen (33) nicht auszuschließen, daß auch in vivo granulozytäre Elastase zum Verbrauch von ATIII bei schweren Entzündungen beiträgt.

10. LITERATURVERZEICHNIS

1. Aasen AO, Ohlson K: Release of granulocyte elastase in lethal canine endotoxin shock; Hoppe Seyler's Z Physiol Chem 1978; 359: 683 - 690
2. Aasen AO, Erichsen N, Gallimore MJ, Amudsen E: Studies on components of the plasma kallikrein-kinin system in plasma samples from normal individuals and patients with septic shock. Adv Shock Res 1980; 4: 1 - 10
3. Abernethy TJ, Avery OT: The occurrence during acute infections of a protein not normally in blood. I. Distribution of the reactive protein in patient's sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C polysaccharide of pneumococcus. J Exp Med 1941; 73: 173 - 182
4. Aoki N, Saito H, Kamiya T, Koie K, Sakata Y, Kobakura M: Congenital deficiency of alpha-2-plasmin-inhibitor associated with severe hemorrhagic tendency. J Clin Invest 1978; 63: 877 - 894
5. Aoki N, Sakata Y, Matsuda M, Tateno K: Fibrinolytic states in a patient with congenital deficiency of alpha-2-plasmin inhibitor. Blood 1980; 55: 483 - 488
6. Aronsen KF, Ekelund G, Kindmark CO, Laurell CB: Sequential changes of plasma proteins after surgical trauma. Scand J Clin Lab Invest 1972; 29 suppl. 127 - 136
7. Bergqvist D, Nilson IM: Hereditary alpha-2-macroglobulin deficiency. Scand J Haematol 1979; 23: 433 - 436
8. De Boer AC, van Riel, Ottolander GJH: Measurement of ATIII, alpha-2-macroglobulin and alpha-1-antitrypsin in patients with deep venous thrombosis and pulmonary embolism. Thromb Res 1979; 15: 17 - 25
9. Brower MS, Harpel PC : Proteolytic cleavage and inactivation of α 2-plasmin inhibitor and C1-inactivator by human polymorphonuclear leukocyte elastase. J Biol Chem 1982; 257: 9849 - 9854
10. Carell RW, Jeppson JO, Laurell CB, Brennan SO, Owen MC, Vaughan L, Boswell DR: Structure and variation of human alpha-1-antitrypsin. Nature 1982; 298: 329 - 334
11. Collen D: Identification and some properties of a new fast-reacting plasmin inhibitor in human plasma. Eur J Biochem 1976; 69: 209 - 216
12. Collen D, Wiman B, Verstraete M (eds): The Physiological Inhibitors of Blood Coagulation and Fibrinolysis: Elsevier/ North Holland Biomedical Press, Amsterdam 1979
13. Colman RW, Robboy SJ, Minna JD: Disseminated intravascular coagulation (DIC): an approach. Am J Med 1972; 52 : 679 - 689

14. Cullmann W, Dick W: Determination of alpha-2-macroglobulin with the chromogenic substrate Chromozym Try. Bull Schweiz Ges Klin Chem 1980; 21: 58 - 61
15. Cullmann W: Die Bestimmung des alpha-2-Makroglobulins im Serum und im Liquor: Biochemie, Methodik und Bewertung. Lab. med. 1982; 6: 187 - 191
16. Dick W, Cullmann W: An amidolytic assay for the determination of alpha-1-antitrypsin in serum and cerebrospinal fluid. J Clin Chem Chir Biochem 1982; 20: 57 - 60
17. Dietz AA, Rubenstein HM, Nodges L: Measurement of alpha-1-antitrypsin in serum by immunodiffusion and enzymatic assay. Clin Chem 1974; 20: 369 - 399
18. Duswald KH: Zur Pathobiochemie der Leukozyten-Elastase und ausgewählter Plasmaproteine bei Sepsis nach abdominal-chirurgischen Eingriffen. Habilitationsschrift an der Medizinischen Fakultät der Universität München 1982
19. Edy J, Collen D, Verstraete M: Quantitation of the plasma protease inhibitor antiplasmin with the chromogenic substrate S - 2251. In: Davidson JF et al. eds. Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis, vol 3, Raven Press, New York 1978; pp 315 - 322.
20. Egeberg O: Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia. Thrombos Diathes Haemorrh 1965; 13: 516 - 530
21. Fareed J, Messmore HL, Wallenga JM, Bermes EW, Bick RL: Laboratory evaluation of antithrombin III: a critical overview of currently available methods for antithrombin III measurements. Thromb Hemostas 1982; 8: 288 - 301
22. Fritz H: Proteinase Inhibitors in severe inflammatory processes (septic shock and experimental endotoxaemia): biochemical, pathophysiological and therapeutic aspects; in: Protein Degradation in Health and Disease (Ciba Foundation Symposium); Elsevier/ North Holland 1980; 351 - 379
23. Gallimore MJ, Amundsen E, Larsbraaten M, Lyngaas K, Fareid E: Studies on plasma inhibitors of plasma kallikrein using chromogenic peptide substrate assays. Thromb Res 1979; 16: 595 - 703
24. Ganrot PO: Determination of alpha-2-macroglobulin as trypsin-protein esterase. Clin Chem Acta 1966; 14: 439 - 501.
25. Gamba G, Fornasari P, Montani N, Biancardi M, Grignani G, Ascari E: Plasma levels of protease inhibitors in acute myeloid leukemia at the onset of the disease and during antileukemic therapy. Thromb Res 1980; 17: 41 - 53
26. Van der Graf F, Koedam JA, Bouma BN: Inactivation of kallikrein in human plasma. J Clin Invest 1983; 71: 149 - 158

27. Gressner AM, Peltzner B: Amidolytic and immunonephelometric determination of alpha-1-protease inhibitor and alpha-2-macroglobulin in serum with calculation of sepcific inhibitor activities in health and disease. J Clin Chem Clin Biochem 1984; 22: 633 - 640
28. Hamilton PI, Stalker AL, Douglas AS: Disseminated intravascular coagulation: a review. J Clin Pathol 1978; 31 : 609 - 619
29. Harpel PC: Human plasma alpha-2-macroglobulin. An inhibitor of plasma kallikrein. J Exp Med 1970; 132: 329 - 352
30. Harpel PC, Rosenberg RD: alpha-2-macroglobulin and antithrombin-heparin cofactor: Modulators of hemostatic and inflammatory reactions, in Spaet TH ed: Progress in Hemostasis and Thrombosis. Grune and Stratton, New York 1976; 145 - 189
31. Hese R, Tritschler W, Castelfranchi G, Bablok W: Antithrombin III: Referenzwerte mit einem chromogenen Substrat (Chromozym TH). Blut 1981; 42: 227 - 234
32. Jeljaszewics J, Waldström T (eds) : Bacterial toxins and cell membranes. Academic press, London; 1980
33. Jochum M, Lander S, Heimbürger N, Fritz H: Effect of human granulocytic elastase on isolated human antithrombin III. Hoppe Seylers Z Physiol Chem 1981; 362: 103 - 112
34. Kalter ES, Timmermans A, Bouma BN: The kinin generating system during sepsis and baterial shock. Agents Actions 1982; 9 (Suppl): 638 - 644
35. Klebanoff SJ, Clark RA (eds) : The Neutrophil: Function and Clinical Disorders. North Holland Amsterdam 1978.
36. Lämmle B, Tri Tran H, Ritz R, Duckert F: Plasma prekallikrein factor XII, antithrombin III, C1-inhibitor and alpha-2-macroglobulin in critically ill patients with suspected disseminated intravascular coagulation (DIC). AJCP 1984; 82: 396 - 404
37. Lill H, Bartl K: alpha-2-Plasmin-Inhibitor in: Bergmeyer HU, Fritz H eds; Methods of enzymatic analysis, Verlag Chemie Weinheim, Vol V 1984; pp 455 - 461
38. Lynch DM, Leff KL, Howe SE: Preoperative ATIII values and clinical postoperative thrombosis: a comparison of three antithrombin III assays. Thromb Haemostas 1984; 52: 42 - 44
39. Mammen EF: Inhibitor Abnormalities. Seminars in Thrombosis and Hemostasis 1983; 9: 42 - 49
40. Mancini G, Carbonava AO, Heremans JF: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Int J Immunochem 1965; 2: 235
41. Mason JW, Kleeberg U, Dolan P, Colman RW: Plasma kallikrein

- and Hageman factor in gram-negative bacteremia. *Ann Intern Med* 1970; 73: 545 - 551
42. Matsuda M, Wakabayashi K: alpha-2-plasmin inhibitor is among acute phase reactants. *Throm Res* 1980; 17: 527- 532
 43. McCabe WR: Serum complement levels in bacteremia due to gram-negative organisms. *N Engl J Med* 1973; 288 : 21 - 23
 44. Moroi M, Aoki N: Isolation and characterisation of alpha-2-plasmin-inhibitor from human plasma. A novel proteinase inhibitor which inhibits activator induced clot lysis. *J Biol Chem* 1976; 251: 5956 - 5965
 45. Movat HZ (ed): *Inflammatory reactions*. *Curr Top Pathol* 1979; 68
 46. Müller-Berghaus G, Bohn E., Höbel W: Activation of intravascular coagulation by endotoxin: the significance of granulocytes and platelets. *Br J Haematol* 1976; 33 : 213 - 220
 47. Mullins RE, Miller RL, Hunter RL, Bennet B: Standardized automated assay for functional alpha-1-antitrypsin. *Clin Chem* 1984; 30: 1857 - 1860
 48. Murray HW, Tuazon CU, Sheagren J N: Staphylococcal septicemia and disseminated intravascular coagulation. *Arch Intern Med* 1977; 137 : 844 - 847
 49. Myrvold HE: Experimental septic shock. *Acta Chir Scand Suppl* 1976; 470 : 1 - 18
 50. Nilsen DWT, Jeremic M, Weisert OK, Fonstelien E, Godal HC: Functional and antigenic antithrombin III values in plasma and sera from 115 regular blood donors and antithrombin III in prediction of postoperative thrombosis. *Thromb Hemostas* 1983; 50: 530 - 533
 51. Odegard OR, Abildgaard U: Antithrombin III: Critical review of assay methods. Significance of variations in health and disease. *Haemostasis* 1978; 7: 127 - 134
 52. Ohlson K: Interaction between endogenous proteases and plasma proteaseinhibitors in vitro and in vivo. In: Fritz H et al (eds): *Proteinaseinhibitors*; Springer, Berlin (Bayer Symposium) 1974: 96 - 105
 53. Ohlson K: Interaction of granulocyte neutral proteases with alpha-1-antitrypsin, alpha-2-macroglobulin and alpha-1-antichymotrypsin. In: Havemann K, Janoff A (eds) *Neutral Proteases of Human Polymorphonuclear Leucocytes*; Urban & Schwarzenberg, Baltimore/ Munich 1978: 167 - 177
 54. Prellwitz W, Schmitt K, Machner M, Schuster C, Weilemann L: Two automated methods for plasma antithrombin III compared, and the clinical significance of the results. *Clin Chem* 1982; 28: 2249 -2253

55. Reeve EB: Steady state relations between factors X, Xa, II, IIa, antithrombin III and alpha-2-macroglobulin in thrombosis. *Thromb Res* 1980; 18: 19 - 31
56. Ritchie RF: Clinical diagnosis and management, Henry JB ed, WB Saunders Comp. Philadelphia, London, Toronto, 1979 Vol I, 228 - 258
57. Roka L: Antithrombin. Boehringer Reihe Aktuelle Diagnostik 1977
58. Sachs L: Angewandte Statistik, Planung und Auswertung, Methoden und Modelle. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 4. Auflage, 1974
59. Schipper HG, Ross J, Meulen F, ten Cate JW: Antithrombin III deficiency in surgical intensive care patients. *Thromb Res* 1981; 27 : 73 - 80
60. Seeghers WH: Antithrombin III. Theory and clinical applications. *Am J Clin Pathol* 1978; 69: 367 - 374
61. Spero JA, Lewis JH, Hasiba U: Disseminated intravascular coagulation. Findings in 346 patients. *Thromb Haemostas* 1980; 43 : 28 - 33
62. Urbaschek B, Urbaschek R, Neter E (eds) : Gram-Negative Bacterial Infections and Mode of Endotoxin Actions. Springer Wien / New York 1975
63. Vogel GE, Gain T: Behandlung mit Antithrombin III: Indikationen und erste Ergebnisse. *Diagnostik und Intensivtherapie* 1982; 8: 179 - 191
64. Wandall JH: Concentration of serum proteins during and immediately after surgical trauma. *Acta Clin Scand* 1974; 140: 171 - 179
65. Werner M, Odenthal D: Serum protein changes after gastrectomy as a model of acute phase reaction. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 302 - 310
66. Werner M, Cohen G: Changes in serum proteins in the immediate postoperative period. *Clin Sci* 1969; 36: 173 - 184
67. Witt I, Tritschler W, Bablok W: alpha-2-Macroglobulin: Reference values in serum and plasma with a chromogenic substrate (Chromozym TRY). *J Clin Chem Clin Biochem* 1981; 19: 877 - 878.
68. Witt I, Tritschler W: alpha-1-Antitrypsin: Referenzwerte im Serum und Plasma mit Benzoyl-D,L-arginin-p-nitroanilid, einem chromogenen Substrat. *J Clin Chem Clin Biochem* 1982; 20: 587 - 591
69. Witt I, Tritschler W: alpha-2-Makroglobulin in Serum und Plasma: Referenzwerte mit Carbo-benzoxym-valyl-glycyl-arginin-p-Nitroanilid, einem chromogenen Substrat. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 429 - 436

70. Witte J, Schiessler H, Scherer R, Jochum M, Schramm W, Fritz H: Hyperdynamic septic shock in humans. Pattern of concentration for selected coagulation factors and plasma proteins. Chir Forum Exp Klin Forsch 1979; 55 - 59
71. Zolton R, Autenrieth S, Tomaski A, Zimmermann T: Comparative Study of functional and nonfunctional assays for antithrombin III. Cicul 1978; Suppl. II: 226

10. LEBENS LAUF

- 6.8.1950 geboren in Prag als Tochter von Marie Jakubcova und Zdenek Jakubec
- 1957-1966 Grundschule in Prag
- 1966 Gymnasium Prag
- 1969-1974 Studium der Slawistik an der Karlsuniversität Prag
- 1974 Ausreise aus der Tschechoslowakei, Deutschkurse an der Universität München
- 1975 Heirat mit Helmut Jering in New Orleans, La, USA
- 1975-1976 Besuch des Studienkollegs München zur Erlangung einer in der BRD anerkannten Hochschulreife
- 1976-1978 Aufenthalt in Puerto Rico, USA; dort Teilnahme an Sprachkursen der Universität von Puerto Rico in Englisch und Spanisch
- 1978-1980 Studium der Zahnmedizin an der Universität Erlangen/Nürnberg
- 1980 Erhalt der deutschen Staatsbürgerschaft
- 1980 Physikum für Zahnmedizin
- 1980-1983 Studium der Zahnmedizin in München
- 1981 Experimentelle Arbeiten für die Doktorarbeit
- 1983 Geburt der Tochter Barbara
- 1984 Staatsexamen in Zahnmedizin und Approbation als Zahnärztin
- 1984-1985 Assistenz Zahnärztin bei Dr. Ascher in München
- 1985-1986 Assistenz Zahnärztin bei Dr. Uebe in Pöcking
- 1985 Aberkennung der Staatsbürgerschaft der CSSR
- 1986 Beendigung der Assistenzzeit und Geburt der Tochter Karola.

